

PDF hosted at the Radboud Repository of the Radboud University Nijmegen

The following full text is a publisher's version.

For additional information about this publication click this link.

<http://hdl.handle.net/2066/107401>

Please be advised that this information was generated on 2018-07-08 and may be subject to change.

1378

NIERCONTRASTMIDDELEN

RENAL CONTRASTMEDIA

A. J. M. ENGELEN

PROMOTOR:
PROF. DR. E. J. ARIËNS

NIERCONTRASTMIDDELEN

FARMACOKINETIEK
EN
ENKELE KLINISCHE ASPECTEN ERVAN

RENAL CONTRASTMEDIA
PHARMACOKINETICS
AND
SOME CLINICAL ASPECTS

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DE GRAAD VAN
DOCTOR IN DE GENEESKUNDE
AAN DE KATHOLIEKE UNIVERSITEIT TE NIJMEGEN,
OP GEZAG VAN DE RECTOR MAGNIFICUS DR. A. TH. L. M. MERTENS,
HOUGLERAAR IN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE,
VOLGENS BESLUIT VAN DE SENAAT IN HET OPENBAAR
TE VERDEDIGEN OP WOENSDAG 26 JUNI 1968,
DES NAMIDDAGS TE 2 UUR
DOOR

ANTONIUS JOHANNES MARIA ENGELN
GEBOREN TE NIJMEGEN

1968

DRUKKERIJ GEBR. JANSSEN N.V. NIJMEGEN

Aan de nagedachtenis van mijn vader
Aan mijn moeder
Aan Berty

Dit onderzoek werd verricht op de afdeling Farmacologie van de katholieke universiteit te Nijmegen (hoofd: Prof. Dr. E. J. Ariëns) en de afdeling Radiologie van het St. Canisius ziekenhuis te Nijmegen.

Bijzondere dank ben ik verschuldigd aan de heer J. Rodrigues de Miranda, wiens medewerking in het bijzonder bij het ontwikkelen van de chemische methodieken voor de totstandkoming van dit proefschrift van onschatbare waarde is gebleken.

Bij de uitvoering van een belangrijk gedeelte van de chemische bepalingen leverden mej. J. C. M. Peters en mej. J. Th. M. Raben hun gewaardeerde medewerking.

De illustraties in dit proefschrift zijn verzorgd door de heer W. P. J. Maas van de medische tekenkamer (hoofd: Chr. van Huijzen) en door de afdeling voor medische fotografie (hoofd: A. Th. A. I. Reijnen) van de katholieke universiteit te Nijmegen.

INHOUD

HOOFDSTUK I

INLEIDING EN DOELSTELLING

INLEIDING EN DOELSTELLING	I
LITERATUUR	5

HOOFDSTUK II

RÖNTGENCONTRASTMIDDELEN

I. INLEIDING	6
II. OVERZICHT RÖNTGENCONTRASTMIDDELEN	6
1. Anorganische verbindingen	6
2. Organische verbindingen	7
3. Chelaten	11
III. RÖNTGENSTRALEN ABSORBEREND VERMOGEN	12
IV. OPLOSBAARHEID IN WATER	15
V. TOXICITEIT	18
1. LD ₅₀	19
2. LD ₅₀ en synthese van contrastmiddelen	21
3. Zoutvorm en toxiciteit	23
4. Eiwitbinding en toxiciteit	24
5. Symptomatologie bij letale dosis	25
6. Toxiciteit en hematologische veranderingen	26
7. Oorzaken van reacties bij intraveneuze injectie van contrastmiddelen	27
a. Chemisch-toxische werking	28
b. Overgevoeligheid	29
c. Histamine liberators	30
d. Remming van het acetylcholine-esterase	31
e. Respiratoire reflex	31
f. Hematologische veranderingen	32
8. LD ₅₀ en tolerantie bij het intraveneuze pyelogram	33
VI. ORGAANREACTIES OP INTRAVENEUZE INJECTIE VAN CONTRASTMIDDELEN	35
VII. VERDELING IN HET ORGANISME	36
SAMENVATTING	37
LITERATUUR	40

HOOFDSTUK III

RÖNTGENCONTRASTMIDDELEN EN HUN UITSCHIEDING DOOR DE NIER

I. INLEIDING	43
II. GLOMERULAIRE ULTRAFILTRATIE	44

III. ACTIEF TUBULAIR TRANSPORT	45
1. Transport door de verschillende compartimenten	47
a. Plasma (compartiment i)	47
b. Peritubulaire ruimte (compartiment ii)	47
c. Peritubulaire celmembraan (compartiment iii)	47
d. Intracellulaire vloeistof (compartiment iv)	48
e. Tubulaire celmembraan (compartiment v)	48
f. Tubulusurine (compartiment vi)	48
2. Actief-transportmechanisme	49
3. Enkele factoren van invloed op het actieve transport	53
a. Enzymen en celmetabolisme	53
b. pH van de urine	55
c. Concentratie van de organische substantie in de tubulusurine	55
d. Ionentransport	57
e. Wederzijdse verdringing van substanties van het actief-transportsysteem	58
4. Mogelijke lokalisatie van het actieve transport	60
5. Moleculaire specificiteit van organische zuren	60
6. Tubulair maximum	61
IV. PASSIEF TUBULAIR TRANSPORT	65
1. Tubulusmembraan	65
2. Grootte van het organische molecuul	66
3. Lipoidoplosbaarheid	66
4. Ionisatieconstante van de organische substantie	67
5. pH-gradiënt	67
6. Terugdiffusie van water	69
V. DE VORMING VAN CONJUGATIEPRODUKTEN DOOR DE NIER	70
VI. LITERATUUROVERZICHT BETREFFENDE DE UITSCHIEDING VAN RÖNTGENCONTRAST- MIDDELEN DOOR DE NIER	71
1. Iodopyracet	71
2. Acetrizoate	74
3. Diatrizoate	76
4. Metrizoate	78
5. Iothalamate	78
6. Iodamide	78
7. Mengsel van contrastmiddelen	79
8. Structuur en uitscheiding	79
SAMENVATTING	81
LITERATUUR	87

HOOFDSTUK IV

RÖNTGENCONTRASTMIDDELEN EN EIWITBINDING

I. INLEIDING	90
II. LITERATUUROVERZICHT	90
III. THEORETISCHE BESCHOUWING OVER EIWITBINDING	92
IV. METHODIEKEN VOOR BEPALING VAN DE EIWITBINDING	96
1. Factoren van invloed bij de bepaling van de eiwitbinding	96
a. Donnan-evenwicht	96
b. Correctie voor het plasmawater	97
c. Adsorptie aan het membraan	97
d. pH	97

e. Steriliteit	98
f. Temperatuur	98
2. Evenwichtsdialyse	98
3. Ultrafiltratie	98
4. Ultracentrifugatie	99
5. Dialyseplaat	99
V. BEPALING VAN DE CONCENTRATIE VAN RÖNTGENCONTRASTMIDDELEN	100
VI. EXPERIMENTEEL ONDERZOEK	101
1. Beschrijving van de methodiek	101
2. Binding aan runderalbumine	102
3. Binding aan hondenplasma-eiwitten	106
SAMENVATTING	110
LITERATUUR	114

HOOFDSTUK V

FARMACOKINETISCHE ANALYSE VAN DE ELIMINATIE VAN NIERCONTRASTMIDDELEN

I. INLEIDING	115
II. THEORETISCHE BESCHOUWING	116
III. EXPERIMENTEEL ONDERZOEK	119
SAMENVATTING	123
LITERATUUR	125

HOOFDSTUK VI

EXPERIMENTEEL ONDERZOEK NAAR DE UITSCHIEDING VAN NIERCONTRASTMIDDELEN

I. INLEIDING	126
II. METHODIEK	127
1. Proefdier en preparatietechniek	127
2. Meting van de urine-pH	128
3. Meting van de urineproductie	129
4. Meting van de concentratie van contrastmiddelen in de urine	129
5. Meting van de concentratie van creatinine in de urine	130
6. Verdunningssysteem en ijking	132
7. Gelijktijdige registratie van röntgencontrastmiddel en creatinine in de urine	135
8. Bepaling van de totale plasmaconcentratie van het contrastmiddel	136
9. Bepaling van de vrije plasmaconcentratie van het contrastmiddel	136
10. Bepaling van de creatinineconcentratie in het plasma	139
III. STOP-FLOW METHODE	140
1. Methodiek	140
2. Interpretatie van de stop-flow curven	142
IV. CLEARANCEBEPALINGEN	146
V. RESULTATEN	148
1. Stop-flow experimenten	149
2. Clearance	159

a. Iodopyracet	160
b. Acetrizoate	163
c. Metrizoate en iodamide	167
d. Diatrizoate en iothalamate	170
VI. COMPETITIE	172
VII. TUBULAIRE UITSCHIEDING EN NATRIUM-ACETAAT	179
VIII. MENGSEL VAN CONTRASTMIDDELEN	182
SAMENVATTING	186
LITERATUUR	192

HOOFDSTUK VII

VERGELIJKEND ONDERZOEK VAN INTRAVENEUZE PYELOGRAMMEN

I. INLEIDING	193
II. A. METHODIEK VAN DE INTRAVENEUZE PYELOGRAFIE	193
B. DOSERINGEN	194
III. KWALITEIT VAN DE RÖNTGENFOTO'S	195
IV. BIJVERSCHEIJNSELEN	199
V. CONCLUSIE	200
SAMENVATTING	202
LITERATUUR	204

SUMMARIES

SUMMARY CHAPTER I	4
Introduction	
SUMMARY CHAPTER II	39
Renal contrastmedia	
Types - physico-chemical data - solubility - toxicity	
SUMMARY CHAPTER III	84
Excretion of renal contrastmedia by the kidney	
Renal physiology - literature review	
SUMMARY CHAPTER IV	112
Protein binding of renal contrastmedia	
Theoretical dissertation - experiments <i>in vitro</i>	
SUMMARY CHAPTER V	124
Pharmacokinetic analysis of the curve of the free plasma concentration of contrastmedia	
Theoretical dissertation - experiments <i>in vivo</i>	
SUMMARY CHAPTER VI	189
Renal excretion experiments with contrastmedia	
Stop-flow experiments and clearance determinations at dogs	
SUMMARY CHAPTER VII	203
Comparative investigation of intravenous pyelograms	
Clinical research	

INLEIDING EN DOELSTELLING

Van de substanties die behoren tot de diagnostische middelen zijn de röntgencontrastmiddelen waarschijnlijk de meest toegepaste. De belangrijkste representanten hiervan zijn wel de nier- en vaatcontrastmiddelen. In eerste instantie zijn deze röntgencontrastmiddelen bestemd geweest voor het radiologisch nieronderzoek, maar al spoedig zijn ze bijzonder goed bruikbaar gebleken voor het radiologisch onderzoek van hart en vaten.

De niercontrastmiddelen zijn geïodeerde organische zuren die hun bruikbaarheid onder meer te danken hebben aan hun lage toxiciteit. Wanneer men zich realiseert dat de toediening als regel intraveneus geschiedt en dat deze contrastmiddelen in een bijzonder hoge dosering toegediend moeten worden, dan mag zeker in vergelijking tot vrijwel alle geneesmiddelen van een zeer lage toxiciteit worden gesproken. Voor de intraveneuze pyelografie ligt de dosis gewoonlijk tussen de 12 en 15 gram, terwijl nog hogere doseringen worden gebruikt bij de angiografieën.

Toch is de tolerantie voor de contrastmiddelen niet zodanig dat men ze zonder enige bezorgdheid kan toedienen. Bij de intraveneuze pyelografie (IVP), ook wel excretiepyelografie genoemd, worden verschijnselen gezien welke onmiskenbaar het gevolg zijn van de injectie van het contrastmiddel in de bloedbaan. Doorgaans zijn de bijverschijnselen van milde aard. Maar ook ernstige symptomen kunnen zich manifesteren, ook al ligt de frequentie hiervan beduidend lager dan van de lichte reacties. Er zijn echter gevallen vermeld, waarbij de injectie van het röntgencontrastmiddel voor de patiënt fataal is gebleken. In een uitgebreid overzichtsartikel, ongeveer 11.500.000 intraveneuze pyelogrammen omvattend, komen Pendergrass en medewerkers (1958) tot een mortaliteit van 1 per 125.000 onderzoeken.

De vraag rijst of alle mortaliteitsgevallen inderdaad het directe gevolg zijn geweest van de injectie van het röntgencontrastmiddel.

Het optreden van bijverschijnselen, met name bij de intraveneuze pyelografie,

vormde in eerste instantie de aanleiding tot deze studie, zowel voor het experimentele als het klinische gedeelte van het onderzoek.

Het blijkt dat men over het algemeen maar slecht geïnformeerd is omtrent het gedrag van de röntgencontrastmiddelen in het organisme, met name van de wijze van uitscheiding door de nieren en de factoren die hierop van invloed kunnen zijn. Een onderzoek naar het uitscheidingspatroon lijkt op zijn plaats, wanneer men in een artikel van Bolin (1966), gewijd aan een onderzoek op het verblijf van contrastmiddelen in de nier tijdens een nierangiografie, leest, dat alle contrastmiddelen ook door de tubuli worden uitgescheiden, zonder dat daarvoor steekhoudende argumenten gegeven worden. Deze studie poogt dan ook tevens een bijdrage te leveren tot een beter begrip van het uitscheidingspatroon van de niercontrastmiddelen.

Aangenomen mag worden dat de dosis van het röntgencontrastmiddel mede van betekenis zal zijn voor het al dan niet optreden van bijverschijnselen (Sobin c.s. 1959 en Shehadi 1966). Het risico voor de patiënt kan men verkleinen door er naar te streven met een zo laag mogelijke dosering van het contrastmiddel uit te komen, dus geen onnodig hoge dosering te gebruiken. Bij de intraveneuze pyelografie gebruikt men gewoonlijk 20 ml van een 60 tot 70% oplossing, een dosis welke in het algemeen goed bruikbare en voldoende contrastrijke afbeeldingen van pyela en calices oplevert. Op grond waarvan men tot deze dosering is gekomen, is ons uit geen enkele publikatie of onderzoek duidelijk geworden. De vraag die we ons gesteld hebben is: in hoeverre en op welke wijze zou het mogelijk kunnen zijn tot een meer gerichte en lagere dosering van het röntgencontrastmiddel te komen, zonder dat aan de contrastrijkheid van de röntgenfoto's afbreuk wordt gedaan. Onmisbaar bij een onderzoek hiernaar is dan een inzicht in het uitscheidingspatroon van de verschillende contrastmiddelen en in de factoren welke op de uitscheiding van invloed kunnen zijn.

De bestudering van het uitscheidingspatroon is geschied door middel van clearancebepalingen en met behulp van de 'stop flow' methode bij honden.

De uitscheiding van organische substanties door de nieren kan beïnvloed worden door verlaging van de binding ervan aan de plasma-eiwitten, in zover deze van enige importantie is, daar dan meer contrastmiddel voor filtratie door de glomeruli beschikbaar komt, en door verandering van de pH van de urine, welke mogelijk van invloed is op de terugdiffusie van organische zuren, waartoe de contrastmiddelen gerekend moeten worden. Tenslotte is het wellicht mogelijk een actief tubulair transport in gunstige zin te beïnvloeden. Daarnaast moet het mogelijk zijn tot een lagere dosering te komen door het gelijktijdig

toedienen van twee contrastmiddelen die op verschillende wijze door de nier worden uitgescheiden. Voorwaarde hierbij is tevens dat zij elkaars uitscheiding niet nadelig beïnvloeden.

Het experimentele onderzoek bij de hond heeft zich voornamelijk in de richting van bovenvermelde mogelijkheden bewogen, zo dat het uiteindelijke resultaat vooral betrekking heeft op het uitscheidingspatroon, de eiwitbinding en de invloed van de pH van de urine. Bij het onderzoek zijn alleen die contrastmiddelen betrokken die tegenwoordig voor de intraveneuze pyelografie nog gebruikt worden.

Aan de hand van de resultaten, verkregen uit de experimentele waarnemingen bij honden, is ook een klinisch onderzoek verricht. Bij verdenking van een patiënt op een nierlijden, hetzij op grond van klinische gegevens, hetzij op grond van soms bij algemeen onderzoek gevonden afwijkingen in de urine, is het intraveneuze pyelogram een veelvuldig gevraagd onderzoek, dat snel een eerste indruk kan geven over vorm en ligging van nierkelkjes, nierbekken, ureteren en blaas. Het maken van een intraveneus pyelogram is in hoofdzaak een morfologisch onderzoek. Vaak echter zal de specialist die het onderzoek aanvraagt, geïnformeerd willen worden over de functie van de nieren. Al te gemakkelijk heeft men dan ook de neiging uit het pyelogram conclusies te trekken over het al dan niet goed functioneren van de nieren.

Er is reeds menig artikel gewijd aan de vraag, of dit radiologisch nieronderzoek wel juiste informaties kan verstrekken over het goed of slecht functioneren van de nieren. De algemene mening is dat het afgaan op goede of slechte afbeeldingen van pyela en calices niet zonder meer mag leiden tot een conclusie omtrent de nierfunctie (Braasch c.s. 1936, Edling c.s. 1960, Esch c.s. 1956, Olivet 1933, Scherf 1961, Squire c.s. 1959 en Wigh c.s. 1962).

Waar in de kliniek gestreefd moet worden naar een zo laag mogelijke dosering van de contrastmiddelen, is nagegaan of dit inderdaad bereikt zou kunnen worden door het geven van twee contrastmiddelen met een verschillend uitscheidingspatroon, zonder dat hiermede de kwaliteit van de röntgenfoto's zou afnemen. Een vergelijkend onderzoek met alle contrastmiddelen is hiervoor noodzakelijk. Tevens is de tolerantie voor de verschillende contrastmiddelen bekeken, omdat naast de uitscheidingssnelheid door de nieren de tolerantie mede bepaalt welk contrastmiddel de voorkeur verdient voor de intraveneuze pyelografie.

SUMMARY CHAPTER I

Will the efforts to make a more effective use of radiopaque agents, especially those applied in intravenous pyelography, be efficient, more and better insight is required in the properties of the various compounds used. In particular the mechanisms and part processes involved in their distribution, with emphasis on the renal excretion have to be paid attention to. Broadening of this basis is one of the main aims of this study. After reviewing the relevant data from the literature on the various renal radiopaque agents in use, the physiological aspects of the excretion of organic acids by the kidney is discussed. The data from the literature available on the radiopaque agents in this respect are dealt with. The then following chapters have an experimental character. They cover *in vitro* experiments especially concerning protein binding and *in vivo* studies mainly in dogs in which measurement of the clearance of radiopaque agents and an analysis of the mechanisms of their excretion by means of the stop-flow method form the main part. These experiments were done with single as well as with combinations of radiopaque agents. In the final chapter clinical aspects of the use of radiopaque agents and the study concerning combinations of such media are presented and discussed.

LITERATUUR

BOLIN, H.: Acta Radiol. Suppl. 1966, 257.

BRAASCH, W. F. en J. L. EMMET,: J. Urol. 1936, 35, 198.

EDLING, N. P. G., C. A. EDVALL en C. G. HELANDER: Acta Radiol. 1960, 54, 433.

ESCH, W. en K. HALBEIS: Zschr. Urologie 1956, 49, 207.

OLIVET, J.: Zschr. Klin. Med. 1933, 125, 9.

PENDERGRASS, H. P., R. L. TONDREAU, E. P. PENDERGRASS, D. J. RITCHIE, E. A. HILDRETH en
S. J. ASKOVITZ: Radiol. 1958, 71, 1.

SCHERF, P.: Thesis Universiteit Frankfurt a.Main 1961.

SHEHADI, W. H.: Amer. J. Roentgen 1966, 97, 762.

SOBIN, S. S., W. G. FRASHER, G. JACOBSON en F. A. VAN EECKHOVEN: J.A.M.A. 1959, 170, 1546.

SQUIRE, L. F. en J. U. SCHLEGEL: Radiol. 1959, 73, 849.

WIGH, R., H. F. ANTHONY JR. en B. P. GRAAT: Radiol. 1962, 78, 869.

HOOFDSTUK II

RÖNTGENCONTRASTMIDDELEN

I. INLEIDING

De gehele ontwikkeling van die röntgencontrastmiddelen, welke in de bloedbaan kunnen worden ingespoten, is een zoeken geweest naar stoffen met:

1. een groot vermogen om röntgenstralen te absorberen,
2. een goede oplosbaarheid in water,
3. een lage farmacologische activiteit en daarmee een geringe toxiciteit.

Voor het radiologische nieronderzoek is bovendien een vlotte uitscheiding door de nieren van belang. Factoren van betekenis zijn hierbij:

1. een gunstige verdeling in het organisme,
2. een lage eiwitbinding,
3. een deelname van alle mechanismen waarover de nieren beschikken om de betrokken substanties via de urine uit het organisme te verwijderen.

De drie laatst genoemde factoren zullen ieder afzonderlijk in een apart hoofdstuk worden besproken.

II. OVERZICHT RÖNTGENCONTRASTMIDDELEN

1. *Anorganische contrastmiddelen*

Omstreeks 1923 is voor het eerst melding gemaakt van een radiologisch nieronderzoek met behulp van een parenteraal toegediend contrastmiddel en wel een oplossing van NaJ 10% (Osborn c.s. 1923 en Volkmann 1924).

De lokale vaatbeschadiging en neiging tot trombose, alsmede het gevaar voor overgevoeligheidsverschijnselen en de invloed van dit anorganisch contrastmiddel op de schildklierfunctie hebben het al spoedig duidelijk gemaakt dat deze verbinding weinig geschikt is voor een routine-onderzoek van de nieren. Door een gelijktijdige injectie van NaJ en ureum (Pyelognost®) bleken de bijverschijnselen iets af te nemen, doch de hiermee verkregen röntgenfoto's van het bekken-

kelksysteem waren deels ten gevolge van een verhoogde diurese van slechte kwaliteit (Roseno 1929).

2. *Organische contrastmiddelen*

De ontwikkeling van de organische röntgencontrastmiddelen is op gang gekomen na de mededeling van Swick (1929) dat Selectan® (N-methyl-5-jodo-2-pyridon), een chemotherapeuticum gebruikt ter bestrijding van cocceninfecties van de galblaas, snel door de nieren wordt uitgescheiden en bovendien een lagere toxiciteit bezit dan NaJ.

Hierop is men overgegaan tot synthese van andere gejodeerde pyridonverbindingen, waarvan het meest bekend is Iopax® of Uroselectan® (5-jodo-2-pyridon-N-azijnzuur) (Binz 1937). Dit röntgencontrastmiddel wordt gekenmerkt door een goede uitscheiding door de nier, maar ook door een lage oplosbaarheid in water (40 g Na-zout per 100 ml water bij 25°), een jodiumgehalte van 42,2% en een betrekkelijk lage toxiciteit (LD₅₀ rat: 23 mmol per kg i.v.) (Langecker c.s. 1954).

Het Uroselectan® is spoedig verdrongen door iodomethamate (N-methyl-3,5-dijodo-4-pyridon-2,6-dicarboxylzuur), waarvan de meest bekende merknamen zijn het Uroselectan B® en Neo-Iopax®. Door het hoge jodiumgehalte (51%) heeft dit röntgencontrastmiddel zich lang kunnen handhaven ondanks de wat hogere toxiciteit (LD₅₀ rat: 18 mmol per kg i.v.) (Langecker c.s. 1954).

Ongeveer tegelijkertijd met de ontwikkeling van voornoemde contrastmiddelen is het methiodal (monojoodmethaansulfonzuur) geïntroduceerd (Bronner c.s. 1930). Het methiodal (Abrodil®, Contrast U®) is afgeleid van methyljodide. Ter vergroting van de oplosbaarheid in water is de sterk hydrofiele sulfonzuurgroep ingevoerd, die als sterke elektronacceptor tevens de neiging tot afsplitsing van het jodium verlaagt (Poulie 1961). Het heeft een jodiumgehalte van 52%, doch is voor intraveneuze injectie te toxisch gebleken (LD₅₀ rat: 20 mmol per kg i.v.) (Hoppe c.s. 1956).

Door invoering van een tweede jodiumatoom heeft men het dimethiodal (Tenebryl®) verkregen. Aanlokkelijk is het hoge jodiumgehalte van 68,6%, doch men heeft nu weer een stof met een lagere oplosbaarheid in water. In de praktijk blijkt dit röntgencontrastmiddel een spasmogene en trombogene werking te bezitten.

Alle tot nu toe vermelde röntgencontrastmiddelen hebben voor het röntgenologisch nieronderzoek geen betekenis meer.

In 1932 is een röntgencontrastmiddel in de handel gebracht dat voor het nier-

functieonderzoek van betekenis is geweest, namelijk het Diodrast®, het diaethanolaminezout van iodopyracet (3,5-dijood-4-pyridon-N-azijnzuur). Als methylglucaminezout (Diagnost M®, Pyelombrine M®) wordt het nog voor de intraveneuze pyelografie gebruikt. Een korte tijd is nog een mengsel van beide zouten in gebruik geweest.

Kort na het verschijnen van iodopyracet publiceerde Swick (1933) zijn ervaringen met een nieuw contrastmiddel, namelijk iodohippurate (ortho-jodohippuurzuur). Hij is tot de synthese van deze substantie gekomen door de waarneming dat in de lever een omzetting plaatsvindt van benzoëzuur in hippuurzuur en dat deze stof bijzonder snel door de nieren wordt uitgescheiden. Iodohippurate heeft als natriumzout (Hippuran®) een jodiumgehalte van slechts 38,8%. Dit, en de vele bijverschijnselen bij injectie in de bloedbaan betekenen dat deze substantie weinig geschikt is voor de intraveneuze pyelografie. Dit contrastmiddel heeft een LD₅₀ van 12,2 mmol per kg bij de rat (i.v.) (Langecker c.s. 1954). Men heeft nog getracht door het jodiumatoom in de ring te verplaatsen of door er een dijood- of trijoodverbinding van te maken, een bruikbaar röntgencontrastmiddel te verkrijgen (Klemme 1940, Wallingford 1953). Deze pogingen resulteerden in substanties met een geringere oplosbaarheid, slechtere uitscheiding door de nieren en hogere toxiciteit dan iodohippurate.

In radioactieve vorm, Hippuran J¹³¹®, wordt deze stof gebruikt bij de renografie, voor welk onderzoek slechts een zeer lage dosis ervan geïnjecteerd hoeft te worden.

In 1950 verscheen in Amerika de eerste trijoodverbinding van acetylaminobenzoëzuur. De eerst gesynthetiseerde verbinding is acetrizolate, het 3-acetylaminoo-2,4,6-trijoodbenzoëzuur, dat in eerste instantie als natriumzout (Urokon®, Triognost®) is toegepast.

Het acetrizolate wordt thans ook als methylglucaminezout gebruikt (Fortombrine M®, Vasurix®), terwijl het tevens in een mengsel van natrium- en methylglucaminezout verkrijgbaar is (Angiombrine®, Plexombrine®).

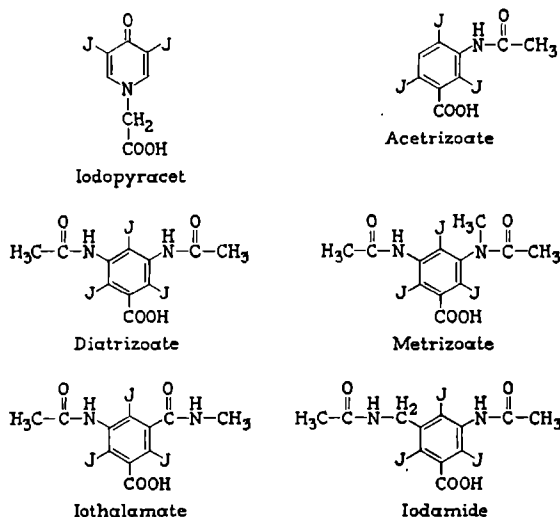
Omstreeks 1954 verscheen diatrizolate (3,5-diacetylaminoo-2,4,6-trijoodbenzoëzuur), een röntgencontrastmiddel dat in Duitsland was ontwikkeld (Langecker c.s. 1954). Het natriumzout ervan (Hypaque®) is in gebruik, evenals het methylglucaminezout (Cardiografin®, Renografin®). Wellicht meer bekend en bij de intraveneuze pyelografie meer toegepast zijn de mengsels van de twee genoemde zouten zoals Urografin®, Hypaque M® en Renovist®.

Een weinig toegepast röntgencontrastmiddel is diprotrizolate (3,5-dipropionyl-

amino-2, 4, 6-trijoodbenzoëzuur), dat als natriumzout onder de naam Miokon® bekend is.

De nieuwste contrastmiddelen stammen uit het jaar 1962. Het zijn iothalamate (5-acetylamino-2,4,6-trijood-N-methyl-isofthalaminezuur) en metrizoate (3-acetylamino-2,4,6-trijood-5-N-methyl-acetylaminobenzoëzuur).

Het iothalamate (Conray®) wordt weer als natrium- of methylglucaminezout gegeven. Later is weer een oplossing geïntroduceerd bestaande uit een mengsel van beide zouten. Metrizoate (Isopaque®) wordt voor het nieronderzoek voornamelijk als natriumzout gebruikt, terwijl aan de oplossing calcium en magnesium zijn toegevoegd.



FIGUUR 1: Structuurformules

FIGURE 1: Structural formulas of the renal contrastmedia

Als laatste röntgencontrastmiddel in de reeks moet worden genoemd het iodamide, waarvan de chemische naam luidt 3-acetylaminoethyl-5-acetylamino-2,4,6-trijoodbenzoëzuur. Sedert 1965 is dit contrastmiddel o.a. verkrijgbaar in Italië en Duitsland onder de naam Uromiro® 300 en 380. In Nederland is het thans bekend onder de naam Urombrine®. Dit is het methylglucaminezout van iodamide. Het wordt echter ook gebruikt als mengsel van natrium- en methylglucaminezout.

In figuur 1 zijn de structuurformules van die röntgencontrastmiddelen opgenomen, welke bij ons onderzoek gebruikt zijn. In tabel 1 zijn van ieder contrastmiddel enkele merknamen vermeld, waarbij tevens de gebruikelijke concentraties

TABEL I / TABLE I: Renal contrastmedia: special names, concentration of the solution and the salts used

Niercontrastmiddelen		Concentratie g/v %	Zout
Generic name	Merknaam		
Iodopyracet	Diodrast	35	Diaethanolamine
	Diognost	35	Diaethanolamine
	Pyelombrine M	60	Methylglucamine
Acetrizoate	Triognost	70	Natrium
	Urokon	70	Natrium
	Fortombrine M	70	Methylglucamine
	Vasurix	75	Methylglucamine
	Plexombrine	60	Natrium + Methylglucamine
Diatrizoate	Hypaque	50	Natrium
	Renografin	60	Methylglucamine
	Urografin	76	Natrium + Methylglucamine
Metrizoate	Isopaque	75	Natrium + Calcium + Magnesium
Iothalamate	Conray	60	Methylglucamine
Iodamide	Urombrine	80	Methylglucamine
		60	Methylglucamine

TABEL 2: Opmerking: Plexombrine®, Urografin® 76 % en 60 % en Conray® 70 % zijn mengsels van natrium- en methylglucaminezout.

TABLE 2: molecular weight and iodine content of various radiopaque agents as well as the concentrations of the salts, in percents, of the acid in mg/ml and of iodine in mg/ml and the molarity of the solutions, clinically used.

Niercontrastmiddelen		Oplossing					
Generic name	Merknaam	Moleculair- gewicht (zuur)	Jodium- gehalte %	Concen- tratie g/v %	zuur mg/ml	Jodium mg/ml	molariteit M/l
Iodopyracet	Pyelombrine M	405	63,5	60	405,0	257,17	1,000
Acetrizoate	Triognost	557	68,4	70	673,4	460,60	1,209
	Plexombrine			60	502,2	443,56	0,902
	Fortombrine M			70	518,0	262,18	0,931
Diatrizoate	Hypaque	614	62,0	50	482,5	370,00	0,786
	Urografin			76	596,7	299,15	0,973
				60	471,8	292,51	0,769
Metrizoate	Isopaque	628	60,6	75	724,5	440,05	1,159
Iothalamate	Conray	614	62,0	60	454,8	281,97	0,742
				70	660,9	409,75	1,069
Iodamide	Urombrine	628	60,6	80	610,4	400,50	0,972

voor de intraveneuze pyelografie zijn opgegeven en bovendien als welk zout het gebruikt wordt. Het aantal merknamen is zo groot dat we bewust een keuze hebben moeten maken. Alleen die merknamen zijn vermeld welke in Nederland een algemene bekendheid genieten. In de tekst zal steeds de 'generic name' van de contrastmiddelen worden gebruikt. Bij de figuren en tabellen zullen tevens de merknamen van de contrastmiddelen worden vermeld.

In tabel 2 is een aantal gegevens van de röntgencontrastmiddelen samengevat, zoals moleculairgewichten, jodiumpercentages van het zuur en de gebruikelijke oplossingen, waarvan weer de samenstelling en het jodiumgehalte. Met betrekking tot de contrastmiddeloplossingen kan nog worden opgemerkt dat aan de oplossingen doorgaans kleine hoeveelheden natriumcitraat als buffer zijn toegevoegd en voor stabilisering van de oplossingen een geringe hoeveelheid natriumzout van ethyleendiaminotetra-azijnzuur. De pH-waarden van de oplossingen liggen tussen 7,2 en 7,6.

3. *Chelaten*

Dit overzicht van de röntgencontrastmiddelen zou onvolledig zijn wanneer geen melding werd gemaakt van het onderzoek dat is verricht om chelaten als contrastmiddel te kunnen gebruiken.

Wanneer een metaalion door twee groepen van een organisch molecuul in een heterocyclische ringstructuur is ingebouwd, is er sprake van chelaatvorming. Door het covalent gebonden metaalion is de chelaatstructuur zo stabiel, dat het metaalion zijn specifieke chemische eigenschappen verliest (Messman c.s. 1957). Chelaatvorming kan optreden met organische moleculen die in het organisme voorkomen, hetgeen een natuurlijke chelaatvorming wordt genoemd. Er zijn echter ook chelaatvormers gesynthetiseerd; de meest bekende hiervan is het EDTA (ethyleendiaminotetra-azijnzuur).

Bijna alle metallische elementen zijn geschikt voor chelaatvorming met EDTA, hoewel in verschillende mate. Dit komt tot uiting in de stabiliteitsconstante van de verschillende EDTA-complexen (Shapiro c.s. 1959).

De bruikbaarheid van chelaten voor het radiologische nieronderzoek zal, naast de mate van uitscheiding door de nieren, bepaald worden door de stabiliteit en de toxiciteit. Het is nog niet gelukt om voor nieronderzoek geschikte en dus goed in water oplosbare zwaarmetaalcomplexen te vormen met een voldoende grote stabiliteit (Gloxhuber 1965).

Over het algemeen is de toxiciteit van de chelaten vrij hoog, zoals uit tabel 3 valt af te lezen (Rubin c.s. 1959). Het meest gunstige is nog EDTA-lood (Clark

TABEL 3: LD₅₀ van enkele kationen en hun EDTA-chelaten, uitgedrukt in mg/kg rat i.p. (Volgens Rubin en Di Chiro 1959)

TABLE 3: LD₅₀ of some cations and their EDTA chelates, expressed as mg/kg rat i.p. (After Rubin and Di Chiro 1959)

Stof	kation mg/kg	LD ₅₀ van het chelaat mg/kg
Calcium (chloride)	65 ± 12	816 ± 38
Nikkel (chloride)	5,9 ± 1,4	600 ± 22
Kobalt (acetaat)	12 ± 2,1	212 ± 14
Koper (sulfaat)	13,2 ± 3,6	40 ± 6
Kwik (chloride)	8 ± 2,1	10 ± 3,6
Chroom (acetaat)	65 ± 7,7	74 ± 11
Lood (acetaat)	540	1825 ± 128

c.s. 1955). De uitscheiding hiervan door de nieren is trager dan van de organische röntgencontrastmiddelen (Shapiro c.s. 1959). Een goede afbeelding van pyela en calices wordt pas 30-45 minuten na parenterale toediening verkregen. Bij ratten is aangetoond dat intraveneuze injectie van EDTA-lood ernstige degeneratie van het tubulusepitheel veroorzaakt (Ivemark c.s. 1957).

Van EDTA-lood blijkt verder dat ongeveer 10-15% niet door de nieren wordt uitgescheiden, hetgeen op een gegeven dosis van 5 g een niet te verwaarlozen hoeveelheid is. Een belangrijk deel van het niet uitgescheiden lood blijkt in de niet-chelaatvorm in beenmerg en lever gestapeld te worden (Rubin c.s. 1959). Er zijn pogingen ondernomen om de organische chelaatvormers zo te modificeren dat er een bepaalde voorkeur ontstaat voor b.v. uitscheiding door de nieren of de tractus digestivus. Dit komt neer op een verandering in de oplosbaarheid, d.w.z. op een synthese van chelaatvormers met een meer hydrofiel of een meer lipofiel karakter.

Samenvattend mag gesteld worden dat de resultaten met chelaatvormers te weinig bevredigend zijn om ze als röntgencontrastmiddel te kunnen gebruiken.

III. RÖNTGENSTRALEN-ABSORBEREND VERMOGEN

Een van de eigenschappen waarop de bruikbaarheid van substanties als röntgencontrastmiddel berust, is het vermogen om röntgenstralen in meerdere of mindere mate te absorberen dan de weke lichaamsdelen of water. Wanneer

wordt uitgegaan van een nauwe mono-energetische stralenbundel kan de absorptie ervan door een stof als volgt worden weergegeven:

$$I = I_0 \cdot e^{-\mu d} \quad (1)$$

In deze vergelijking is:

I: de intensiteit van de röntgenbundel na passage van d cm stof.

I_0 : de primaire intensiteit van de röntgenbundel.

e: het grondtal der natuurlijke logaritmen (= 2,718...).

μ : de verzwakkingscoëfficiënt van de stof in cm^{-1} .

d: de dikte van de stof in cm.

Veelal gebruikt men $\frac{\mu}{\rho}$, welke de 'massa-verzwakkingscoëfficiënt' wordt genoemd, uitgedrukt in cm^2/g (ρ is de soortelijke massa van de stof). Vergelijking (1) kan dan ook als volgt worden weergegeven:

$$I = I_0 \cdot e^{-\frac{\mu}{\rho} \rho d} \quad (2)$$

Wanneer ρd gelijk gesteld wordt aan d^* (in g/cm^2), wordt de formule:

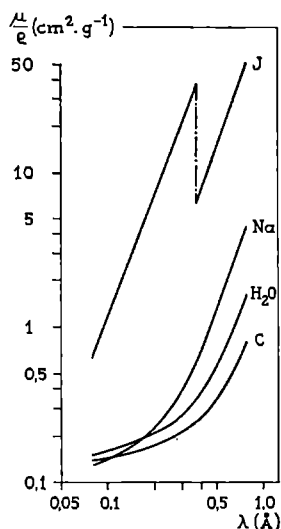
$$I = I_0 \cdot e^{-\frac{\mu}{\rho} d^*} \quad (3)$$

Experimenteel is gebleken dat voor de foto-elektrische absorptie $\frac{\mu}{\rho}$ toeneemt bij toenemende golflengte van de röntgenstralen (λ) en toenemend atoomnummer (Z) van een element (Mellink 1961). Deze evenredigheid wordt als volgt weergegeven:

$$\frac{\mu}{\rho} (\text{:}) \lambda^3 Z^{3 \text{ à } 4}$$

Deze afhankelijkheid komt tot uiting in figuur 2, waarin water en enkele in het contrastmiddel voorkomende elementen zijn opgenomen.

Voor het verkrijgen van contrast op de röntgenfoto, ofwel voor het verkrijgen van intensiteitsverschillen in de uittredende straling, zal er tussen het röntgencontrastmiddel en water (of weke delen) een verschil moeten bestaan in $\frac{\mu}{\rho}$ en d^* . Voor de praktijk zijn die substanties bruikbaar als röntgencontrastmiddel waarvan $\frac{\mu}{\rho}$ aanmerkelijk groter of kleiner is dan van water.



FIGUUR 2: Relatie tussen λ en $\frac{\mu}{\rho}$ van water en enkele elementen voorkomend in het contrastmidelemolecuul. (Volgens Mellink 1961)

FIGURE 2: Relation between λ and $\frac{\mu}{\rho}$ of water and some elements present in the molecule of a contrastmedium. (After Mellink 1961)

Opmerking:

De discontinuïteit die voor jodium in $\frac{\mu}{\rho}$ bij veranderende golflengte van de röntgenbundel optreedt, zoals uit figuur 2 blijkt, hangt samen met het feit dat bij een bepaalde golflengte het absorptieproces van het röntgenquant niet meer door elektronen uit de K-schil, maar door die uit de L-schil wordt verzorgd. Voor jodium is deze karakteristieke golflengte 0,373 Å.

Het vermogen om röntgenstralen in hoge mate te absorberen komt bij de röntgencontrastmiddelen op rekening van een of meerdere in het molecuul geïncorporeerde atomen met een hoog atoomnummer, namelijk het jodium. De chemische bindingstoestand is hierbij van geen betekenis (Knoefel 1961 en Mellink 1961). De massa-verzwakkingscoëfficiënt van een contrastmiddel kan worden

berekend door optelling van de diverse $\frac{\mu}{\rho}$'s van alle er in voorkomende elementen, met inachtneming van de samenstelling in gewichtsprocenten. Het blijkt nu dat de verhouding in de intensiteiten van de uittredende straling bij contrastmiddelen en water voornamelijk bepaald wordt door het aantal mg jodium per cm^3 , vooral in het golflengtegebied groter dan 0,2 Å (Mellink 1961).

Het in de röntgendiagnostiek gebruikte golflengtegebied ligt ongeveer tussen 0,08 en 0,6 Å.

Tot op heden is het jodiumatoom nog het meest geschikt gebleken als element met een hoog atoomnummer in het contrastmideelmolecuul. Enerzijds komt dit omdat het zich gemakkelijk laat inbouwen in een organisch molecuul (Archer 1959 en Schoen 1962^a) en anderzijds omdat de toxiciteit van de jodiumhoudende contrastmiddelen lager is dan van stoffen met een ander element met een hoog atoomnummer (Schoen 1962^b). Het ligt voor de hand dat doorgaans gesteld wordt dat trijoodverbindingen meer röntgenstralen zullen absorberen dan dijoodverbindingen. Feitelijk gaat het echter om het jodiumpercentage per molecuul contrastmiddel en het aantal moleculen in de absorberende laag. Er bestaat weinig verschil in jodiumpercentage van iodopyracet (een dijoodverbinding) en de trijoodbenzoëzuurverbindingen (tabel 2).

Bekijkt men verder de verschillende oplossingen waarin de röntgencontrastmiddelen in de handel worden gebracht, dan is er wel enig verschil in jodiumgehalte per ml oplossing, hetgeen bv. voor het vaatonderzoek medebepalend kan zijn voor de keuze van het contrastmiddel (tabel 2).

Op grond van de hoeveelheid jodium per ml oplossing een contrastmiddel te kiezen voor het nieronderzoek is niet correct, omdat hier het uitscheidingspatroon van het contrastmiddel van bijzondere betekenis wordt. Belangrijker is hier immers de hoeveelheid jodium, ofwel contrastmiddel, welke gedurende een bepaalde tijd in het bekkenkelksysteem van de nier terechtkomt.

IV. OPLOSBAARHEID IN WATER

Het is begrijpelijk dat de oplosbaarheid in water en dus de mate waarin een substantie oplosbaar is, factoren zijn die medebepalend zijn voor de geschiktheid van een stof om in de bloedbaan te kunnen worden ingespoten.

Voor de arteriografie en de angiografie is het belangrijk dat het contrastmiddel in een zo gering mogelijke hoeveelheid oplosmiddel wordt toegediend. Het gaat immers om een zo hoog mogelijke concentratie van het röntgencontrastmiddel in de vaten of het hart.

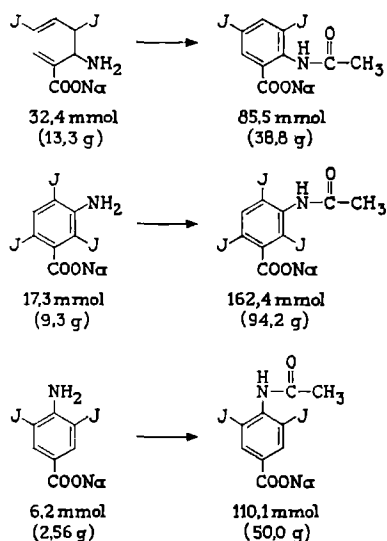
De voorkeur zullen dan verdienen die contrastmiddelen die een hoge oplosbaarheid in water bezitten. Bij de synthese van de contrastmiddelen heeft de oplosbaarheid een belangrijke rol gespeeld.

Iodopyracet bezit een pyridonring, welke op zichzelf hydrofiel is, waarbij de carboxylgroep door haar zoutvormend vermogen tot de oplosbaarheid bij-

draagt. Door gebruik te maken van een zoutvormende base, zoals diaethanolamine en methylglucamine, die alcoholische OH-groepen bevatten, kan een nog betere oplosbaarheid worden verkregen. Bij de ontwikkeling van de belangrijkste groep röntgencontrastmiddelen is uitgegaan van benzoëzuur.

Jodering van benzoëzuur leidt tot een monojood- of trijoodverbinding, substanties die slecht in water oplosbaar zijn (Knoefel c.s. 1956).

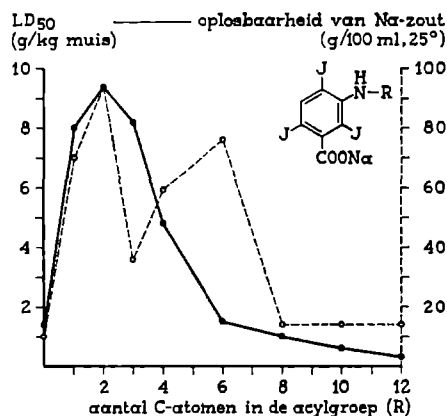
Wallingford en medewerkers (1952) hebben als uitgangspunt genomen de gejoode aminobenzoëzuren. Bij de aminogroep in de meta-positie kan een trijoodverbinding worden gesynthetiseerd en bij de aminogroep in de ortho- of para-positie een dijoodverbinding. De oplosbaarheid in water van alle drie gejoode aminobenzoëzuren is niet bijzonder groot (figuur 3).



FIGUUR 3: Oplosbaarheid in water van het Na-zout van aminobenzoëzuurderivaten, uitgedrukt in mmol of g/100 ml water van 25°. (Naar gegevens van Wallingford c.s. 1952)

FIGURE 3: Solubility in water of derivatives of aminobenzoate sodium, expressed as mmol or g/100 ml water of 25°. (After data from Wallingford c.s. 1952)

Door acylering van bovengenoemde verbindingen verkrijgt men substanties welke duidelijk beter in water zijn op te lossen (Knoefel c.s. 1956 en Wallingford c.s. 1952). De mate van oplosbaarheid in water wordt hierbij bepaald door het aantal C-atomen in de acylgroep.



FIGUUR 4: Relatie tussen oplosbaarheid in water en LD₅₀ en het aantal C-atomen in een reeks geacyleerde derivaten van 3-amino-2,4,6-trijoodbenzoëzuur (Na-zout). (Volgens Wallingford c.s. 1952)

FIGURE 4: Relation between the solubility in water and LD₅₀ and the number of C-atoms in a series of acylated derivatives of 3-amino-2,4,6-triodobenzoate sodium. (After Wallingford c.s. 1952)

Acetylering van 3-amino-2, 4, 6-trijoodbenzoëzuur, hetgeen impliceert het voorkomen van twee C-atomen in de acylgroep, geeft een substantie welke zich bijzonder goed in water laat oplossen. Deze verbinding is het contrastmiddel acetrisoate. Vermeerdering van het aantal C-atomen in de acylgroep doet de oplosbaarheid in water weer dalen (figuur 4) (Wallingford c.s. 1952).

De acetyl-derivaten van amino-dijoodbenzoëzuur zijn qua oplosbaarheid duidelijk inferieur aan die van de trijoodverbinding. Acetrizoate blijkt een betere oplosbaarheid in water te bezitten dan diatrizoate (tabel 4).

TABEL 4 / TABLE 4: Solubility in water of some renal contrastmedia as sodium salt, expressed as mmol or g/100 ml water of 25°

Niercontrastmiddel	Oplosbaarheid van Na-zout in water 25°		Auteur
	mmol/100 ml	g/100 ml	
Iodopyracet	154	66	Lundbeck & Co 1956
Acetrizoate (Urokon®)	162	94	Wallingford c.s. 1952
Diatrizoate (Hypaque®)	94	60	Langecker c.s. 1954
Metrisoate (Isopaque®)	130	85	Jepsen c.s. 1963
Iothalamate (Conray®)	134	85	Hoey c.s. 1963

Door van diatrizoate een oplossing te maken met de zoutvormende base methylglucamine wordt een sterke verhoging van de oplosbaarheid verkregen. Deze bedraagt dan 89 g per 100 ml water bij 25°C (Langecker c.s. 1954). Wanneer de oplosbaarheid van een röntgencontrastmiddel van doorslaggevende betekenis zou zijn, dan zou de keuze moeten vallen op bv. acetrizoate.

De vraag rijst waarom bij de ontwikkeling van röntgencontrastmiddelen voor intraveneuze pyelografie en angiografie niet eveneens gebruik is gemaakt van jodiumhoudende quaternaire ammoniumbasen. Deze stoffen immers zouden een even goed röntgenstralen-absorberend vermogen kunnen hebben, terwijl gezien het feit dat het hier als regel om zeer sterke basen gaat, zij wat water-oplosbaarheid betreft zelfs beter zouden kunnen zijn dan de thans gebruikte zuren. De belangrijkste reden voor het niet toepassen van quaternaire ammoniumverbindingen op dit gebied moet waarschijnlijk gezocht worden in het feit dat verschillende quaternaire ammoniumverbindingen, waartoe vele geneesmiddelen behoren, ook in relatief lage concentraties een hoge farmacodynamische activiteit hebben. Dit nu zou uit de aard der zaak een beletsel kunnen vormen voor het gebruik van dit type stoffen als drager van jodium en daarmee voor het gebruik als röntgencontrastmiddel.

Medebepalend voor de keuze zijn dan ook de andere reeds eerder vermelde eigenschappen, vooral de snelheid van uitscheiding en de farmacologische activiteit of toxiciteit van de contrastmiddelen.

V. TOXICITEIT

In hoge mate bepalend voor de bruikbaarheid van een stof om aan de mens te kunnen worden toegediend is de toxiciteit.

Na synthese van een substantie zal men alvorens deze in de kliniek te gaan toepassen middels dierexperimenten nagaan of toediening van het middel voor de mens geen grote risico's met zich mee zal brengen.

Bij de bespreking van de toxiciteit moet wel een onderscheid worden gemaakt tussen de acute en chronische toxiciteit. Bij de acute vorm gaat het om reacties of bijwerkingen die optreden tijdens of onmiddellijk na de injectie of toediening van het farmacon.

De chronische toxiciteit kan op twee manieren worden opgevat. Enerzijds kan het hierbij gaan om bijwerkingen die optreden na chronische toediening van een stof en anderzijds kunnen er onder verstaan worden reacties die op de lange duur pas optreden na een eenmalige dosis van een substantie. In dit laatste

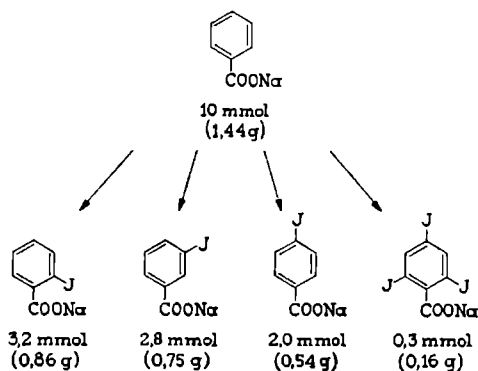
geval kan gedacht worden aan bv. Thorotrast®, een radioactieve stof welke een carcinogene werking blijkt te bezitten waarvan het effect pas na jaren tot uiting komt. Voor de niercontrastmiddelen, welke in een eenmalige dosis worden gegeven, is met name de acute toxiciteit actueel.

1. LD₅₀

Een maat voor de toxiciteit is de LD₅₀, welke weergeeft die dosis van een stof die in een bepaalde toedieningswijze voor 50% van de proefdieren dodelijk is gebleken.

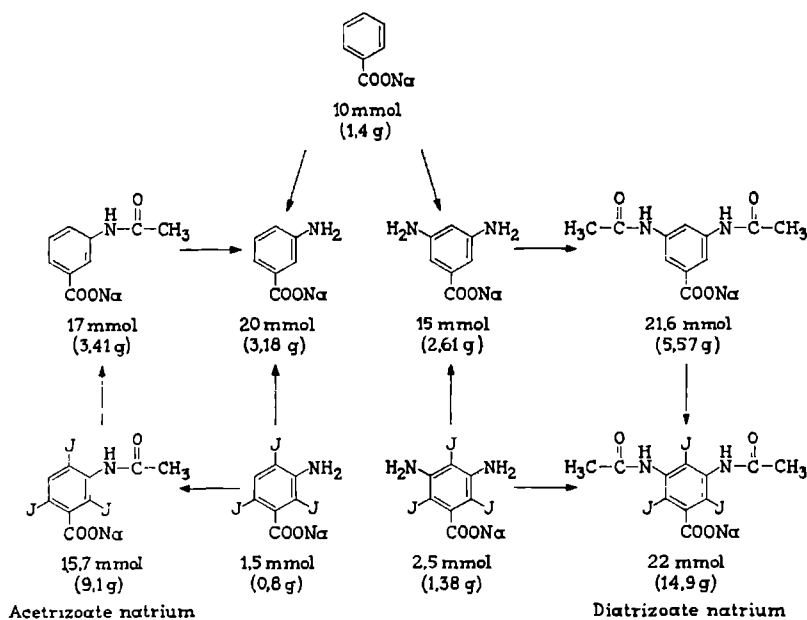
TABEL 5 / TABLE 5: LD₅₀ of the renal contrastmedia, expressed as mmol/kg or g/kg mouse or rat

Niercontrastmiddel		LD ₅₀				Auteur
Generic name	Zout	Muis		Rat		
		g/kg	mmol/kg	g/kg	mmol/kg	
Iodopyracet	Natrium			5,6	13,1	Langecker c.s. 1954
	Diaethanolamine	6,4	11,0	6,0	11,8	Hoppe c.s. 1956
	(Diodrast®)			5,4	10,6	Langecker c.s. 1954
	Methylglucamine			5,9	9,8	Langecker c.s. 1954
	(Pyelombrine® M)					
Acetrizoate	Natrium	9,1	15,7	7,0	12,1	Hoppe c.s. 1956
	(Triognost®)			11,6	20,0	Langecker c.s. 1954
	Methylglucamine					
	(Plexombrine®)					
Diatrizoate	Natrium	14,0	22,0	11,4	17,9	Hoppe c.s. 1956
	(Hypaque®)			14,7	23,1	Langecker c.s. 1954
	Methylglucamine			14,7	18,1	Langecker c.s. 1954
	(Renografin®)					
Metrizoate	Natrium	15,5	23,8			Busfield c.s. 1962
	(Isopaque®)					
	Natrium + Calcium +	16,9	26,0			Nyegaard & Co 1964
	Magnesium					
	(Isopaque®)					
Iothalamate	Natrium	19,2	30,1			Hoey c.s. 1963
	(Conray®)					
	Methylglucamine	19,2	23,7			Hoey c.s. 1963
	(Conray®)			20,0	24,7	Kodama c.s. 1963
Iodamide	Natrium	9,0	14,0	11,4	17,5	Bonati c.s. 1965
	(Urombrine®)					



FIGUUR 5: LD₅₀ van Na-benzoaat en de geïodeerde derivaten, uitgedrukt in mmol/kg of g/kg hond i.v. (Naar gegevens van Knoefel en Huang 1956)

FIGURE 5: LD₅₀ of sodium benzoate and the iodinated derivatives, expressed as mmol/kg or g/kg dog i.v. (After data of Knoefel and Huang 1956)



FIGUUR 6: Invloed van ringsubstitutie in Na-benzoaat op de LD₅₀, uitgedrukt in mmol/kg of g/kg muis i.v. (Volgens Hoppe c.s. 1956)

FIGURE 6: Influence of ring substitution in sodium benzoate on the LD₅₀, expressed as g/kg or mmol/kg mouse i.v. (After Hoppe c.s. 1956)

De röntgencontrastmiddelen zijn intensief op hun toxiciteit onderzocht. Dat de gevonden LD_{50} -waarden, zoals door de verschillende auteurs worden opgegeven, niet volledig overeenstemmen, behoeft niet te verwonderen (tabel 5). Debet hieraan kunnen zijn het gebruik van verschillende diersoorten, en het verschil in onderzoekstechniek, zoals de injectiesnelheid (Bernstein c.s. 1961) en de observatietijd. Met de ontwikkeling van de nieuwere contrastmiddelen als diatrizoate, metrizoate en iothalamate zijn substanties verkregen met een hogere LD_{50} -waarde of geringere toxiciteit.

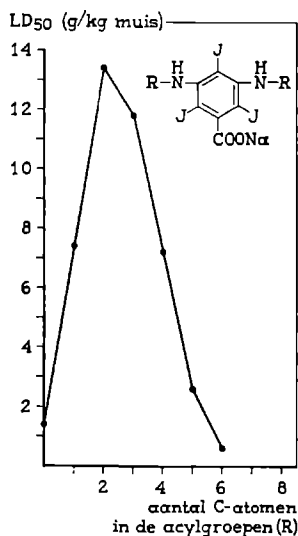
2. LD_{50} en synthese van contrastmiddelen

De röntgencontrastmiddelen uit de benzoëzuurgroep hebben hun uiteindelijke bruikbaarheid mede te danken aan de gunstige LD_{50} . Aan de hand van enkele publikaties willen we dit nader toelichten.

Uitgaande van de grondvorm benzoëzuur hebben Knoefel en Huang (1956) waargenomen dat jodering ervan tot verhoging van de toxiciteit leidt (figuur 5). Aminobenzoëzuur en diaminobenzoëzuur zijn stoffen met een lagere toxiciteit dan benzoëzuur (Hoppe c.s. 1956). Jodering van deze substanties doet de LD_{50} -waarde echter weer dalen (figuur 6).

Wallingford en medewerkers (1952) zijn uitgegaan van geïjodeerde aminobenzoëzuren en hebben het effect van de acylering ervan bestudeerd. Uit hun experimenten blijkt dat de plaats van de aminogroep aan de benzeenring op zich reeds van invloed is op de toxiciteit. Bevindt de aminogroep zich in de meta-positie dan wordt een lagere letale dosis gevonden (namelijk van 2,7 mmol per kg bij de muis) dan wanneer deze groep zich in de para- of ortho-positie bevindt. De LD_{50} (bepaald bij de muis) is dan 1,2 mmol respectievelijk 0,4 mmol per kg. Knoefel en Huang (1956) komen tot ongeveer dezelfde bevindingen. Opvallend is dat bij de meta-aminoverbinding er zich drie jodiumatomen aan de benzeenring bevinden, terwijl bij de aminogroep in de andere twee posities er slechts een diiodoverbinding kan worden verkregen. Een toename van het aantal jodiumatomen als zodanig behoeft dus niet een vergroting van de toxiciteit in te houden.

Acetylering van de aminogroep, op welke plaats aan de benzeenring deze zich ook mag bevinden, geeft een duidelijk lagere toxiciteit. Deze is het laagst bij de acetylaminogroep in de meta-positie, terwijl een nog sterker effect gezien wordt bij 3,5-diacetylaminobenzoëzuur (Hoppe c.s. 1956).



FIGUUR 7: Relatie tussen LD₅₀ en het aantal C-atomen in een reeks geacyleerde derivaten van 3,5-diamino-2,4,6-trijoodbenzoëzuur (Na-zout). (Naar gegevens van Larsen c.s. 1956)

FIGURE 7: Relation between LD₅₀ and the number of C-atoms in a series of acylated derivatives of 3,5-diamino-2,4,6-triiodobenzoate sodium. (After data from Larsen c.s. 1956)

Verlenging van de acetylaminoketen bij 3-acetylaminobenzoëzuur doet de toxiciteit weer toenemen (Wallingford c.s. 1952) (figuur 4).

Bij de diamino-trijoodbenzoëzuurderivaten wordt blijkens een onderzoek van Larsen en medewerkers (1956) een soortgelijk effect op de LD₅₀-waarde gezien (figuur 7).

Het aantal C-atomen in de acylgroep blijkt evenals voor de oplosbaarheid ook doorslaggevend te zijn voor de toxiciteit (figuur 4). De belangrijkste factor voor de gunstige LD₅₀ van de verkregen röntgencontrastmiddelen vormt de acetylering. In figuur 6 valt ook op dat de daling in de toxiciteit het sterkst is bij acetylering van 3-amino-2,4,6-trijoodbenzoëzuur en 3,5-diamino-2,4,6-trijoodbenzoëzuur.

Vergelijkt men echter de LD₅₀ van 3-acetylaminobenzoëzuur en 3,5-diacetylaminobenzoëzuur met hun trijood-verbindingen (acetrizoate en diatrizoate) dan ziet men dat, in tegenstelling tot vóór de acetylering, de invoering van het jodium in het molecuul ná de acetylering nauwelijks van invloed is op de toxiciteit (figuur 6).

Sommige veranderingen in de moleculaire bouw, met name in de zijketen op de 5-plaats aan de ring, hetgeen metrizoate en iothalamate van diatrizoate doet onderscheiden, blijkt een gunstig effect te hebben op de toxiciteit (tabel 5).

3. Zoutvorm en toxiciteit

Of de röntgencontrastmiddelen als natriumzout worden gegeven of gecombineerd met een zoutvormende base heeft op de LD₅₀ weinig invloed, zoals uit tabel 5 valt af te lezen. Bekijkt men echter het percentage reacties na diatrizoate als natriumzout en als mengsel van dit zout met het methylglucaminezout dan blijkt eerstgenoemde oplossing, ondanks de soms lagere dosering, door de patiënten minder goed te worden verdragen (tabel 6). Hieruit zou geconcludeerd kunnen worden dat de zoutvorm, in casu de hoeveelheid Na⁺-ionen die in de oplossing aanwezig zijn, mede van betekenis kan zijn voor de toxiciteit. Men verklaart dit wel door aan te nemen dat de hoge concentratie Na⁺-ionen de permeabiliteit van de celmembraan verhoogt waardoor de toxische werking van het organische röntgencontrastmiddel wordt bevorderd (Fischer c.s. 1965). Deze veronderstelling heeft ertoe geleid dat Ca⁺⁺- en Mg⁺⁺-ionen aan de oplossing metrizoate zijn toegevoegd. Deze ionen zouden een antagonistisch effect hebben op de invloed van de hoge concentratie van Na⁺-ionen op de membraanpermeabiliteit. De gunstige werking van de Ca⁺⁺- en Mg⁺⁺-ionen in de oplossing van het contrastmiddel komt tot uiting in de verandering in de LD₅₀. De toxiciteit blijkt duidelijk geringer. De toxiciteit neemt toe wanneer aan de oplossing K⁺-ionen worden toegevoegd (Nyegaard & Co 1964). Aan de oplossing

TABEL 6: LD₅₀ en het percentage bijverschijnselen bij de intraveneuze pyelografie

TABLE 6: LD₅₀ and the percentage of side-effects in the intravenous pyelography. The LD₅₀ is expressed as mmol/kg rat or mouse i.v.

Niercontrastmiddel	LD ₅₀ mmol/kg i.v.	Reacties %
Iodopyracet (Diagnost® 35 %)	10,6 (rat)	37,9
Iodopyracet (Pyelombrine M® 60 %)	9,8 (rat)	29,9
Acetrizoate (Triognost® 70 %)	20,0 (rat)	35,1
Diatrizoate (Hypaque® 50 %)	23,1 (rat)	13,5
Diatrizoate (Urografin® 76 %)	18,1 (rat)	9,0
Metrizoate (Isopaque® 75 %)	23,8 (muis)	8,5
Iothalamate (Conray® 60 %)	23,7 (muis)	15,1

metrizoate wordt naast natrium zoveel calcium en magnesium toegevoegd dat een nagenoeg overeenkomstige verhouding in de kationensamenstelling wordt verkregen als in het plasma. In de oplossing bevindt zich geen kalium.

Feitelijk is in het zout van het contrastmiddel een deel van de Na^+ -ionen vervangen door Ca^{++} - en Mg^{++} -ionen. Het blijkt uiteindelijk niet zozeer te gaan om de hoeveelheid van deze ionen in de oplossing, als wel om de concentratieverhouding. Gestreefd is naar een zoveel mogelijk handhaven van de 'ionic balance' van het plasma bij injectie van het röntgencontrastmiddel in de bloedbaan.

Experimenteel is gebleken dat grotere hoeveelheden calcium en magnesium de toxiciteit van de oplossing verhogen. Uitsluitend calcium of magnesium aan de oplossing toevoegen heeft een minder gunstig effect op de toxiciteit. Er wordt geen gunstig effect op de LD_{50} -waarde van het contrastmiddel gezien door een combinatie van methylglucamine en calcium en magnesium (Nyegaard & Co 1964).

4. Eiwitbinding en toxiciteit

Enkele onderzoekers hebben gewezen op een mogelijk verband tussen toxiciteit en binding van de röntgencontrastmiddelen aan de plasma-eiwitten (Knoefel c.s. 1956 en Lasser c.s. 1962). Het is van de contrastmiddelen bekend dat zij in meerdere of mindere mate aan de eiwitten in het plasma worden gebonden. De binding vindt voornamelijk plaats aan het albumine.

In het algemeen blijkt dat een röntgencontrastmiddel dat een hoge eiwitbinding heeft, doorgaans ook een hoge toxiciteit bezit, terwijl contrastmiddelen welke slechts voor een klein deel aan plasma-albumine worden gebonden, minder toxisch zijn (Lasser c.s. 1962).

Een verklaring voor deze relatie wordt niet gegeven.

Het is denkbaar dat contrastmiddelen bij hun binding aan plasma-albumine andere substanties ervan verdringen. Deze substanties zouden lichaamseigen stoffen kunnen zijn of een door de patiënt gebruikt medicament, mogelijk substanties die potentiële histamineliberators zijn. Verdringing van bilirubine van plasma-eiwitten door geneesmiddelen is een welbekend verschijnsel. Het gaat hier om een competitie voor de albuminereceptoren waarbij de affiniteit van de stoffen voor het eiwit en de concentratieverhouding van betekenis zijn. Niet het contrastmiddel zelf, maar de vrijgekomen substantie zou dan de reactie teweegbrengen. Uiteraard kan een sterke neiging tot plasma-eiwitbinding ook samengaan met een sterke neiging tot binding aan weefseiwitten. Dit zou dan een meer directe werking betekenen van de contrastmiddelen op het organisme.

5. Symptomatologie bij letale dosis

Naast het vaststellen van de LD₅₀ van de verschillende röntgencontrastmiddelen kan het belangrijk zijn te weten onder welke symptomen de dood van de proefdieren intreedt. De symptomatologie kan wellicht verhelderend werken bij het zoeken naar een antwoord op de vraag wat de oorzaak of oorzaken kunnen zijn van de bijverschijnselen, welke kunnen optreden bij de intraveneuze pyelografie. Vóór het intreden van de dood doen zich zowel bij honden, katten als muizen verschijnselen voor als braken, incontinentia urinae et alvae gevolgd door clonische convulsies overgaand in tonische krampen (Bonati c.s. 1965, Hoppe c.s. 1956 en Kodama c.s. 1963). De dood volgt op een ademhalingsstilstand, welke ongeveer 3 tot 5 minuten na de intraveneuze injectie van het röntgencontrastmiddel in letale dosis begint.

Bij een onderzoek naar de LD₅₀ bij honden vermelden Bernstein en medewerkers (1961) een syndroom bestaande uit hypotensie, pulmonale hypertensie, pulmonaal oedeem en hemorragie, en een tachycardie. Deze laatste duurt slechts kort en wordt gevolgd door een ernstige bradycardie. In de meeste gevallen treedt dan spoedig de dood in. Bij obductie worden als de meest opvallende afwijkingen gevonden een dilatatie van het rechterhart en hemorragische longen (Hoppe c.s. 1956 en Bernstein c.s. 1961). Microscopisch zijn in de longvenen en longcapillairen veel embolieën van erythrocyten aantoonbaar. Men acht nu deze embolieën van wezenlijke betekenis. Er is namelijk vastgesteld dat bij samenklontering van erythrocyten de druk in de arteria pulmonalis verhoogd is (Lindgren c.s. 1964). Met laagmoleculair dextran kan deze vorming van erythrocytenembolieën worden voorkomen (Bernstein c.s. 1960), waarbij dan tevens geen verhoogde druk in de arteria pulmonalis meer wordt gevonden. Genoemde auteurs menen nu dat met name het longparenchym gevoelig is voor de embolieën van erythrocyten; deze zouden een reflectoire ademstilstand geven, welke verloopt via de efferente nervus phrenicus en de afferente nervus vagus. Dit laatste wordt geconcludeerd omdat na bilaterale vagotomie deze respiratoire reflex niet gezien wordt. De optredende hypotensie zou secundair zijn aan de pulmonale hypertensie.

Hoewel enerzijds de symptomatologie als zodanig kan wijzen op een cerebrale doodsoorzaak (Langecker c.s. 1953), wordt anderzijds gesuggereerd dat het effect van de röntgencontrastmiddelen op het bloed de primaire oorzaak is. Zoals hierna zal worden toegelicht treden ook *in vitro* rolvorming en agglutinatie van erythrocyten op onder invloed van contrastmiddelen.

6. Toxiciteit en hematologische veranderingen

Zowel bij experimenten *in vivo* als *in vitro* is waargenomen dat röntgencontrastmiddelen beschadiging van erythrocyten kunnen veroorzaken. Er treedt een schrompeling van de erythrocyten op naast agglutinatie en rolvorming, terwijl de hematocrietwaarde daalt (Bonati c.s. 1965, Chaplin c.s. 1961, Björk 1967, Bernstein c.s. 1964, Lasser c.s. 1962 en Rand c.s. 1964, 1965). In deze experimenten is met een hypertone oplossing van röntgencontrastmiddelen gewerkt. De vermelde veranderingen van de erythrocyten kunnen ook optreden met andere hypertone oplossingen, zoals bv. mannitol (Rand c.s. 1964, 1965). Toch valt uit een onderzoek van Lasser en medewerkers (1962) op te maken dat de osmolariteit niet alleen als oorzaak mag worden gezien. Met een oplossing van iodopyracet in mensenvloed in een molaire concentratie van 10^{-5} treedt een duidelijke schrompeling en agglutinatie van erythrocyten op. Met een oplossing van diatrizoate in een nagenoeg gelijke molaire concentratie ($0,9 \cdot 10^{-5}$) wordt alleen rolvorming van de erythrocyten gezien.

Uit een onderzoek bij katten, waarbij tezamen met de verandering in de erythrocyten een verhoogde druk wordt gevonden in de arteria pulmonalis, concluderen Lindgren en medewerkers (1964) dat de osmolariteit van het contrastmiddel niet van doorslaggevende betekenis is. Een 9% oplossing van NaCl geeft deze verschijnselen niet, terwijl er een duidelijk verschil bestaat in effect van de verschillende contrastmiddelen met een zelfde osmolariteit en bij een dosering zoals in de kliniek toegepast wordt. De hematologische veranderingen tonen geen correlatie met de viscositeit van de contrastmiddeloplossingen (Lasser c.s. 1962 en Rand c.s. 1965). Het blijkt dus dat het effect van de röntgencontrastmiddelen op de bloedelementen voor een deel bepaald wordt door het type contrastmiddel (Lindgren c.s. 1964). Lasser en medewerkers (1962) wijzen hierbij op een zeker verband tussen toxiciteit, de mate van binding van de contrastmiddelen aan albumine van de mens en de mate van beschadiging van de erythrocyten. Substanties met de hoogste binding aan serum-albumine geven ook de sterkste agglutinatie en schrompeling van de erythrocyten.

Verondersteld wordt dat erythrocyten tegen vormverandering en samenklontering worden beschermd door een zich aan het oppervlak van de cel bevindend albumine, het crystalbumine (Furchgott c.s. 1940). Na centrifugeren van een oplossing waarin mensenerthrocyten en radioactief gemerkt acetrisoate blijkt dat ongeveer 4% van het contrastmiddel in of aan de erythrocyten gebonden is (Lasser c.s. 1962).

Verondersteld wordt dat acetrizoate zich gebonden aan eiwit in of aan de rode bloedlichaampjes bevindt en dat ten gevolge daarvan agglutinatie kan optreden. De waarnemingen wijzen er op dat naast de osmolariteit ook het soort röntgencontrastmiddel bepalend is voor de mate waarin de veranderingen van de erytrocyten zich voordoen en dat er een relatie bestaat tussen dit effect en de toxiciteit.

7. Oorzaken van reacties bij intraveneuze injectie van contrastmiddelen

Bij intraveneuze injectie van röntgencontrastmiddelen kunnen de meest uiteenlopende verschijnselen optreden, welke overduidelijk het gevolg zijn van de toediening van de stof, en waarvan de frequentie bepaald wordt door het soort contrastmiddel dat is gebruikt (tabel 7). Gezien de grote verscheidenheid der bijverschijnselen is nauwelijks aan te nemen dat het mechanisme voor alle reacties hetzelfde is.

Aangezien men omtrent het aangrijpingspunt van de röntgencontrastmiddelen in dit opzicht nog in het duister tast, is een indeling van de bijverschijnselen naar aetiologie niet mogelijk.

Op basis van de symptomen is het mogelijk de bijverschijnselen in te delen zodat een enigszins acceptabel overzicht wordt verkregen.

Een bruikbare indeling vindt men in een artikel van Crocker en Vandam (1963). Zij onderscheiden eenvoudigweg ernstige, lichte en lokale reacties.

Wanneer we deze indeling aanhouden voor de reacties optredend tijdens of vlak na de injectie van een contrastmiddel bij de intraveneuze pyelografie, dan komt men tot het volgende overzicht:

1. ernstige algemene reacties; deze kunnen worden onderscheiden in:
 - a. circulatoire; zoals aritmieën, hartstilstand, hypotensie en shock,
 - b. respiratoire; zoals apnoe, dyspnoe en pulmonaal oedeem,
 - c. allergische; angioneurotisch oedeem, astma-aanval en anafylactische shock,
 - d. neurologische; convulsies.
2. lichte algemene reacties, welke verdeeld kunnen worden in:
 - a. overgevoelighedsreacties: urticaria, rhinitis en niezen,
 - b. overige reacties: braken, misselijkheid, hoofdpijn, hoesten, metaalsmaak, warmtesensatie en duizeligheid.
3. lokale reacties; hiertoe behoren:
vaatspasme, trombose en pijn nabij de injectieplaats of in de arm waarin de injectie heeft plaatsgevonden.

Met betrekking tot de ernstige reacties kan nog worden opgemerkt dat con-

vulsies vermoedelijk veroorzaakt worden door anoxie daar ze meestal optreden tezamen met dyspnoe en cyanose (Hildreth c.s. 1960).

In een overzichtsartikel van Hildreth en medewerkers (1960) wordt vermeld dat bij 102 gevallen met fatale reacties, verzameld uit de literatuur, de ademhalingsreacties het meest frequent voorkomen, namelijk voor 75 %. In 21 % der gevallen treedt een ernstige circulatoire collaps op de voorgrond. Bij 26 fatale reacties tijdens een angiocardiografie blijkt meestal een plotselinge ademhalingsstilstand te zijn opgetreden (Dotter c.s. 1950). De symptomen uit de groep van lichte bijverschijnselen kan men het vaakst waarnemen. Ernstige reacties komen gelukkig sporadisch voor. Er is reeds op gewezen dat de oorzaken voor de bijverschijnselen niet bekend zijn. Mede gezien bepaalde reacties wordt aan de volgende mogelijkheden gedacht:

- a. een directe chemisch-toxische weefselbeschadigende werking van de röntgencontrastmiddelen,
- b. overgevoeligheid voor de contrastmiddelen,
- c. werking van de contrastmiddelen als 'histamine liberator',
- d. een versterkte acetylcholine-werking na injectie van het röntgencontrastmiddel,
- e. respiratoire reflex,
- f. hematologische veranderingen.

ad a. Chemisch-toxische werking

Deze veronderstelling lijkt niet zo waarschijnlijk wanneer men bedenkt dat een invloed van de contrastmiddelen op organen of orgaansystemen alleen bij zeer hoge doseringen gezien wordt.

Een mogelijkheid waarmee men rekening dient te houden is het voorkomen van sporen jodiden in de oplossingen van de contrastmiddelen en wel in de orde van 20-80 µg per ml (Schüsler 1962). Daarnaast kan in het organisme de jodering van organische jodiumverbindingen plaatsvinden door dejodasen (Barke 1965 en Gloxhuber 1965). Het is bekend dat weken tot maanden na toediening van een contrastmiddel de PBI-waarde (protein bound iodine) verhoogd en de opname van jodium door de schildklier verlaagd is (Drummy 1953, Ogben c.s. 1959 en Thorén 1960). Bij hondenexperimenten blijkt dat bij een dosering van 0,2 mg NaJ per kg geen reacties optreden (Hildreth c.s. 1960). Er kan veilig gesteld worden dat deze hoeveelheid jodide beduidend hoger is dan bij de toediening van organische röntgencontrastmiddelen in de bloedbaan bij de intraveneuze pyelografie.

ad b. Overgevoeligheid

Het is begrijpelijk dat naar aanleiding van bepaalde bijverschijnselen aan overgevoelighedsreacties wordt gedacht. Men kan hierbij in het algemeen drie vormen onderscheiden (Voorhorst 1965^a):

1. de atopische allergie, een reactie tussen allergeen en atopische reagents,
2. de anafylactische allergie, een reactie tussen antigeen of haptene en antilichamen,
3. de 'delayed type'-allergie.

De atopische allergie kan hier buiten beschouwing worden gelaten daar kenmerkend voor deze vorm is dat de symptomen bij voorkeur optreden op de plaats waar het allergeen met het lichaam in contact komt en de allergenen doorgaans uit vrij grote moleculen bestaan. Aangezien het hier gaat om acute reacties bij de intraveneuze pyelografieën kan ook de 'delayed type'-allergie buiten beschouwing worden gelaten. De anafylactische allergie komt als mogelijke oorzaak van de bijverschijnselen nog het meest in aanmerking.

Antistoffen kunnen op twee wijzen zijn ontstaan, hetzij actief verworven, hetzij passief verkregen. Sensibilisatie behoeft dan niet altijd bekend te zijn.

Een stof kan als antigeen werken mits het een eiwit of eiwithoudende substantie is. Daarnaast is het mogelijk dat niet-eiwithoudende stoffen in het organisme aan plasma-eiwitten worden gebonden en als zodanig in staat zijn antilichamen te vormen. Het substraat, dat leidt tot vorming van het complex, wordt haptene genoemd. Het zal duidelijk zijn dat röntgencontrastmiddelen als zodanig geen antigenen zijn. Iets anders is de vraag of ze als haptene werkzaam kunnen zijn. Het is van contrastmiddelen bekend dat ze aan plasma-eiwitten worden gebonden en wel voornamelijk aan het albumine. Het aantonen van antilichamen tegen deze stoffen is tot op heden echter niet mogelijk gebleken (Lasser c.s. 1966 en Wieners 1965).

Een andere mogelijkheid blijft dat niet de röntgencontrastmiddelen, maar de in de oplossing voorkomende sporen vrij jodium verantwoordelijk zijn voor de overgevoelighedsverschijnselen. Naar deze relatie is geen onderzoek verricht. Waarom het ene contrastmiddel meer reacties teweegbrengt dan een ander blijft echter een open vraag. Hoe het ook zij, tegen een anafylactische allergie pleiten de volgende bevindingen.

1e. Een overgevoeligheidstest, in welke vorm dan ook uitgevoerd, geeft geen enkele voorspelling omtrent een te verwachten reactie bij de intraveneuze pyelografie (Finbey c.s. 1958, Mathews 1959, Pizon 1956, Sandström 1953, Tucker

c.s. 1956, Maurer c.s. 1965, Svoboda 1965, Oeser c.s. 1965 en Stuart 1965).
2e. Wanneer een onderzoek met een contrastmiddel op kortere of langere termijn wordt herhaald, wordt geen verhoging van de frequentie der bijverschijnselen gezien (Sandström 1955 en Svoboda 1965).

3e. Bij patiënten bij wie tijdens de intraveneuze pyelografie reacties zijn opgetreden, worden bij een herhaling van het onderzoek met hetzelfde contrastmiddel niet altijd weer bijverschijnselen gezien (Sandström 1955, du Mesnil de Rochemont c.s. 1965). Dit geldt ook voor de ernstige reacties en bij patiënten met een overgevoeligheidsanamnese.

Dit laatste behoeft geen argument tegen een allergie te zijn omdat het bekend is dat de hoeveelheid anafylactische antistoffen in de loop der tijden sterk kan wisselen (Voorhorst 1965^b). Voorts zijn er enkele factoren die het vermoeden van een overgevoeligheid ondersteunen.

Bij patiënten namelijk met een overgevoeligheidsanamnese ligt het percentage bijverschijnselen hoger dan bij patiënten die hiermede niet belast zijn (Lentino c.s. 1956, Mathews 1959, McClenahan c.s. 1963, Moore c.s. 1953, Richardson c.s. 1950, Root c.s. 1955, Speicher 1956 en Winter 1955). Bovendien zijn er waarnemingen die er op wijzen dat na toediening van een antihistaminicum het percentage bijverschijnselen daalt (Atkins c.s. 1957, Gilg 1953, Moore c.s. 1953, Nesbit 1959, Olsson 1951, Sanger 1959, Bohne c.s. 1953 en Winter 1955). Of hiermede zonder meer gesteld kan worden dat dit pleit voor een overgevoeligheidsreactie blijft een vraag. Wanneer men aan de hand van de publikaties nagaat welke bijverschijnselen vooral in frequentie afnemen, dan blijken dit misselijkheid en braken te zijn. Het effect van de gebruikte antihistaminica zoals Phenergan®, Benadryl®, Thenfadol® en Chlortrimeton®, lijkt eerder te moeten worden toegeschreven aan een anti-emetische werking van deze substanties.

ad c. Histamine liberators

Het feit dat antihistaminica een zekere preventieve werking uitoefenen op de bijverschijnselen die optreden bij toediening van de röntgencontrastmiddelen doet vermoeden dat histamine bij het ontstaan van de reacties van betekenis kan zijn (Shehadi 1966). Ook sommige reacties als zodanig doen hier aan denken. Er wordt verondersteld dat de antigeen-antilichaamreactie beschadiging van cellen tot gevolg heeft waarbij dan histamine of histamine-achtige stoffen vrijkomen. Bepaalde stoffen kunnen histamine of histamine-achtige stoffen ook direct uit de cellen vrijmaken. Dergelijke substanties worden gerangschikt onder de

'histamine liberators'. Een bekend voorbeeld van een dergelijke stof is Compound 48/80 (Dews c.s. 1953).

Voor de veronderstelling echter dat contrastmiddelen als 'histamine liberator' werkzaam zouden kunnen zijn, zijn tot op heden geen bewijzen gevonden (Engelen c.s. 1961).

ad d. Remming van het acetylcholine-esterase

Een geheel andere mogelijke oorzaak voor de bijverschijnselen wordt naar voren gebracht door Lasser en medewerkers (1966). Genoemde auteurs hebben zich afgevraagd of sommige van de bijverschijnselen die optreden bij injectie van een röntgencontrastmiddel in de bloedbaan veroorzaakt kunnen zijn door een remming van het acetylcholine-esterase. Zij denken hierbij o.a. aan symptomen als hypotensie, dyspnoe, convulsies en urticaria, welke bij een verhoogde cholinerge activiteit gezien kunnen worden.

Ter verificatie van deze gedachte zijn *in vitro* experimenten verricht. Het blijkt dan dat slechts een betrekkelijk hoge dosis van de contrastmiddelen een remming van de activiteit van het acetylcholine-esterase veroorzaakt. Lasser en medewerkers (1966) menen dan ook de röntgencontrastmiddelen te moeten kwalificeren als matige remmers. Zij constateren verder een zeker verband tussen toxiciteit en vermogen om acetylcholine-esterase te remmen. Hoe sterker het remmend effect, des te groter blijkt de toxiciteit.

Als voorbeeld voor het matig remmende effect van röntgencontrastmiddelen op de acetylcholine-esteraseactiviteit moge dienen dat acetrisoate in een molariteit van 0,12 (\pm 70 mg per ml) een remming van 50 % geeft. Overigens blijkt uit dit onderzoek ook dat het type contrastmiddel de mate van remming bepaalt.

ad e. Respiratoire reflex

Er is reeds ter sprake gekomen dat bij fatale reacties tijdens de intraveneuze pyelografie en ook bij de angiocardiografie de respiratoire symptomen het meest frequent voorkomen. Het ziet er dan naar uit dat de longen de plaats van inductie zouden kunnen zijn voor de reacties.

Lang (1965) heeft nagegaan of er een verschil bestaat in percentage bijverschijnselen bij intraveneuze en bij intra-arteriële injectie. Bij een groot aantal patiënten werd op beide genoemde wijzen een dosering van 30 ml van een 50-60 % oplossing van iothalamate of diatrizoate geïnjecteerd. Uit dit onderzoek blijkt dat het aantal reacties bij intraveneuze injectie beduidend hoger ligt dan bij injectie laag in de aorta. In het eerste geval werden bijvoorbeeld 22 keer misse-

lijkheid en 8 keer shock geregistreerd tegen 2 keer misselijkheid en 1 maal shock bij de intra-arteriële injectie.

Echter ook bij die onderzoeken waarbij het röntgencontrastmiddel via een catheter in het gebied van de aorta ascendens of arcus aortae wordt ingespoten worden meer reacties gezien (Lang 1965). Een verklaring hiervoor zou kunnen zijn dat de röntgencontrastmiddelen dan snel en relatief onverdund via de arteriae bronchiales de longen bereiken.

ad f. Hematologische veranderingen

Er is reeds besproken dat röntgencontrastmiddelen o.a. een schrompeling en agglutinatie van erythrocyten kunnen veroorzaken (Hoofdstuk II, V. 6).

Het is nu maar de vraag of deze hematologische veranderingen ook optreden bij intraveneuze injectie van contrastmiddelen in een dosering van 20 ml van een 50 tot 70 % oplossing, zoals algemeen bij het intraveneuze pyelogram gebruikelijk is. Sobin en medewerkers (1959) hebben aan 24 patiënten 30 ml diatrizoate (Hypaque® 50 %) intraveneus gegeven en het gedrag van bloed en vaatjes op de overgang van cornea naar sclera bestudeerd. Naast een vertraging van de circulatie werd een agglutinatie van erythrocyten gezien. Tot een volledige stasis van het bloed kwam het niet. Het is belangwekkend te weten of bij het optreden van een dergelijke agglutinatie van erythrocyten zich ook algemene bijverschijnselen voordoen. Een onderzoek hiernaar is verricht door Lindgren en medewerkers (1964). Tijdens injectie van enkele röntgencontrastmiddelen werden bij patiënten de vaten van de conjunctiva microscopisch geobserveerd. Als contrastmiddelen werd gegeven 20 ml diatrizoate (Urografin® 76 % of Hypaque® 50 %) of 20 ml Biligradin forte® 50 %, een galblaascontrastmiddel. In meer dan 50 % der onderzoeken met Biligradin forte® werd een agglutinatie van erythrocyten waargenomen. In al de gevallen waarbij dit verschijnsel optrad volgde een algemene reactie, welke in de meeste gevallen zich uitte als misselijkheid. Met Urografin® 76 % werd slechts bij 16 % van de patiënten een agglutinatie van de erythrocyten gezien, waarvan 50 % gepaard ging met misselijkheid. Met Hypaque® 50 % werden geen enkele maal afwijkingen in het bloed gezien. Van het totaal der onderzochte patiënten trad slechts bij 1 patiënt, waarbij de erythrocyten geen veranderingen vertoonden, misselijkheid op.

Aan dit verschil tussen deze contrastmiddelen mag niet te veel waarde worden toegekend, omdat met Hypaque® slechts 6 patiënten zijn onderzocht tegenover 25 patiënten met Urografin® en 25 met Biligradin forte®. Bovendien zijn de molaire concentraties van de gebruikte oplossingen verschillend.

Ondanks het feit dat het hier nog maar een kleine serie onderzoeken betreft, lijkt de veronderstelling toch wel gewettigd dat er een verband bestaat tussen vormverandering en agglutinatie van erythrocyten en het optreden van bijverschijnselen bij de intraveneuze pyelografie. Een onopgeloste vraag blijft waarom bij sommige patiënten de erythrocyten wel en bij anderen niet door de contrastmiddelen worden aangetast.

8. LD_{50} en tolerantie bij de intraveneuze pyelografie

Er blijkt een zekere mate van correlatie te bestaan tussen de bij dierexperimenten gevonden LD_{50} en de frequentie der bijverschijnselen die optreden bij de mens na intraveneuze injectie van de verschillende röntgencontrastmiddelen (tabel 6). De in tabel 7 opgegeven percentages reacties, door de verschillende auteurs vermeld, hebben alleen betrekking op de algemene bijverschijnselen die waargenomen worden bij de intraveneuze pyelografie. De lokale reacties zijn buiten beschouwing gelaten omdat deze niet altijd vermeld worden. Deze tabel geeft geen volkomen betrouwbare indicatie voor de frequentie van bijwerking omdat de toegepaste techniek voor de intraveneuze pyelografie bij de verschillende auteurs nogal uiteenloopt en niet altijd nauwkeurig vermeld wordt. Onder meer ontbreekt nogal eens de opgave van de injectiesnelheid. Ook ontkomt men niet aan de indruk dat door een aantal auteurs sommige symptomen niet als reactie worden beschouwd, terwijl anderen deze er wel toe rekenen. Met name lijkt dit het geval met de warmtesensatie. Het is dus begrijpelijk dat hierdoor afbreuk gedaan wordt aan de betekenis van de vermelde percentages reacties. De opgegeven percentages in de literatuur hebben niet altijd betrekking op het aantal patiënten die een reactie vertoonden maar op het aantal bijverschijnselen, die zijn waargenomen. Dat wil dan zeggen dat wanneer meerdere symptomen zich bij één patiënt openbaarden, ieder symptoom apart is vermeld. In tabel 7 zijn dan ook alleen publikaties verwerkt waarin het percentage patiënten vermeld is bij welke reacties zijn opgetreden en waarin bovendien min of meer eensluidende symptomen zijn opgegeven.

In tabel 6 is het gemiddelde van de percentages uit tabel 7 naast de LD_{50} -waarde van de verschillende contrastmiddelen vermeld.

Overigens lijkt het ons juist niet de LD_{50} alleen te vergelijken met het percentage bijverschijnselen, maar de LD_{50} -waarde op de gegeven dosis te betrekken. Dit is alleen mogelijk wanneer de dosis gebaseerd is op het lichaamsgewicht van de patiënten. Een dergelijke dosering vindt in de regel niet plaats; meestal

TABEL 7: Relatie tussen percentage bijverschijnselen en het contrastmiddel, gebruikt bij de intraveneuze pyelografie
 TABLE 7: Relation between the percentage of side-effects and the contrastmedium, used in the intravenous pyelography

IODOPYRACET		ACETRIZOATE		DIATRIZOATE		IOTHALAMATE		METRIZOATE		AUTEURS				
Pyelombrine M®														
Diagnost® 35 % 20 ml	60 % 20 ml	Triognost® 70 % 20-25 ml	Hypaque® 50 % 20-30 ml	Urografin® 76 % 20 ml	Conray® 60 % 20 ml	Isopaque® 75 % 20 ml								
Aantal IVP	Reacties %	Aantal IVP	Reacties %	Aantal IVP	Reacties %	Aantal IVP	Reacties %	Aantal IVP	Reacties %					
						100	9			Babaiantz c.s. 1955				
				300	9,8			200	8	Bodner c.s. 1955				
										Boesch 1965				
				100	45	200	21	200	14	Bohne c.s. 1956				
						100	22	100	27	Dotter c.s. 1964				
				100	25	200	16	200	12,5	Eyler c.s. 1956				
	100	26						100	10	Frei 1954				
						650	5			Fischer c.s. 1965				
						500	12			Green 1956				
						209	14,4	342	12,3	Harle c.s. 1958				
										Jepsen c.s. 1963				
								130	14	Klose 1966				
						200	17	200	8,5	Lentino c.s. 1956				
111	45	104	33,8					654	6,1	Moore c.s. 1953				
										Orr c.s. 1959				
1415	37,5									Robbins c.s. 1951				
						350	9,7			Root c.s. 1955				
66	21,2			87	39,1					Roth c.s. 1957				
				300	39,5					Schmiedt c.s. 1957				
						345	13	630	12,1	Tatelman c.s. 1958				
									88	19	Teske 1964			
				200	36	200	12	200	8		Utz c.s. 1958			
								1000	8		Zeitel c.s. 1956			
								344	11,7		van Velzer c.s. 1962			
				450	31						Winter 1955			
1592		204		1237		2604		4620		518		646		Totaal aantal IVP
	37,9		29,9		35,1		13,5		9,0		15,1		8,5	Gemiddeld percentage reacties

wordt 20 ml van een oplossing van een contrastmiddel gegeven. De relatie tussen toxiciteit en dosis kan als volgt worden verkregen. Als uitgangspunt geldt een patiënt met een lichaamsgewicht van 70 kg, waarbij dan bv. een injectie van 20 ml van een 70 % oplossing van acetrizoate resulteert in een dosis van 200 mg per kg. Wanneer zo de dosis voor ieder röntgencontrastmiddel wordt berekend en hierop de LD₅₀-waarde wordt betrokken, komt men tot een betere vergelijking.

VI. ORGAANREACTIES OP INTRAVENEUZE INJECTIE VAN CONTRASTMIDDELEN

Aan de farmacologische activiteit van röntgencontrastmiddelen is veel aandacht besteed. In hoeverre kunnen nu verdere onderzoeken, welke op dit terrein zijn verricht, nog verhelderend werken op het probleem van de bijverschijnselen die optreden bij de intraveneuze pyelografie. De vermelde effecten van röntgencontrastmiddelen op de verschillende organen en orgaansystemen treden doorgaans alleen duidelijk op bij een relatief hoge dosering en bij voorkeur bij een dusdanige toedieningswijze dat in een kort tijdsbestek een grote hoeveelheid contrastmiddel aan het te onderzoeken orgaan wordt aangeboden. Dit geldt zowel de *in vitro* als de *in vivo* experimenten.

Het is duidelijk dat, waar experimenteel onder volkomen andere omstandigheden wordt gewerkt dan bij de intraveneuze pyelografie, de verkregen resultaten slechts van geringe betekenis kunnen zijn voor het probleem van de aetiologie der bijverschijnselen bij de intraveneuze pyelografie. Over het algemeen is het uit de verrichte experimenten betreffende de invloed van contrastmiddelen op bv. bloeddruk, hart, longen, hersenen en nieren wel duidelijk geworden dat de hypertonie van de oplossingen mede van betekenis is (Busfield c.s. 1962, Cotrim 1954, Hilal 1966, Lélek c.s. 1965 en Zseböck c.s. 1966). Met een oplossing van bv. NaCl 7 % kunnen soortgelijke effecten worden opgewekt. Daarnaast mag echter ook gesteld worden dat de chemische eigenschappen van het röntgencontrastmiddel een rol spelen (Busfield c.s. 1962, Fischer c.s. 1967, Gensini c.s. 1964, Guzman c.s. 1959, Hoppe c.s. 1956, Langecker c.s. 1953, 1954, Lélek c.s. 1967, Lindgren 1959, Lindgren c.s. 1962 en Sessions c.s. 1962). De tolerantie voor bv. acetrizoate en iodopyracet blijkt geringer dan voor de nieuwere contrastmiddelen.

Bij de pogingen tot interpretatie van de verschillende bijwerkingen is bij herhaling gewezen op de mogelijke rol van de hoge concentratie der ingespoten

stoffen en in samenhang daarmee op de plaats van injectie en de snelheid van injectie. Waar het betreft intraveneuze pyelografie zijn deze hoge concentraties, en is ook de snelle injectie geen vereiste. Men heeft dan ook bij deze toepassing gepoogd door langzame inspuiting het aantal bijwerkingen te verminderen. Voor wat betreft de resultaten zijn de meningen verdeeld (Finbey c.s. 1958 en Richardson c.s. 1950).

Ook heeft men gepoogd door verdunnen van de oplossing voor injectie aan de bezwaren tegemoet te komen. Hoewel de berichten in dit opzicht positiever lijken, bestaat ook hieromtrent nog geen eenheid van inzicht. In hoofdstuk VII komen wij hierop nog terug.

VII. VERDELING IN HET ORGANISME

Een gegeven dat ons interesseert is in hoeverre de contrastmiddelen zich bij de verspreiding door het organisme beperken tot de extracellulaire ruimten. Dit kan een snelle eliminatie uit het organisme in de hand werken, waardoor de kans op een betere tolerantie of lagere toxiciteit groter is. Over de verdeling van de röntgencontrastmiddelen in het lichaam zijn ons alleen gegevens bekend van iodopyracet, acetrizooate en diatrizooate (Langecker c.s. 1953, 1954, Kimbel c.s. 1955, Mc Chesney c.s. 1957 en Porporis c.s. 1954). Bij honden, waarbij beide nieren geëxtirpeerd zijn, wordt ongeveer 50 minuten na toediening van diatrizooate een verdelingsvolume gevonden van 39,3 % van het lichaamsgewicht. Voor acetrizooate ligt dit tussen 31 en 47 % (Langecker c.s. 1953, 1954).

Het verdelingsvolume berekenen uit de totale plasmaconcentratie is alleen reëel, indien de onderzochte substantie niet aan eiwitten gebonden is. Bestaat er wel een eiwitbinding, dan moet van de vrije concentratie worden uitgegaan. Uit een vergelijkend onderzoek met iodopyracet, acetrizooate en diatrizooate bij katten blijkt een nagenoeg gelijke weefselverdeling voor deze contrastmiddelen (Mc Chesney c.s. 1957). Zo is van diatrizooate na ongeveer 3 uur $\pm 80\%$ door de nieren uitgescheiden terwijl dan nog ongeveer 10 % in spieren, hart, lever en tractus digestivus aanwezig is. Van acetrizooate wordt een wat hoger percentage in lever en gal teruggevonden (Porporis c.s. 1954).

Van de hierboven genoemde röntgencontrastmiddelen mag gesteld worden dat ze weinig verschil in weefselverdeling vertonen en dat ze zich bij voorkeur in de extracellulaire vloeistof bevinden.

De snelle uitscheiding van deze röntgencontrastmiddelen uit het organisme wijst ook in deze richting.

SAMENVATTING

De röntgencontrastmiddelen welke bij de intraveneuze pyelografie gebruikt worden zijn geïodeerde organische zuren. Zij bezitten een goed vermogen om röntgenstralen te absorberen, een goede wateroplosbaarheid als Na-zout, welke verhoogd kan worden door gebruik te maken van het methylglucaminezout, een gunstige verdeling in het organisme, een hoge LD₅₀ en goede tolerantie bij klinisch gebruik; dit laatste met uitzondering van iodopyracet en acetrizolate. De lengte van de acylgroep(en) in de geïodeerde aminobenzoëzuurderivaten is bepalend voor de wateroplosbaarheid en toxiciteit. Beide eigenschappen zijn het gunstigst bij acetylering van amino- en diamino-trijoodbenzoëzuur. De tolerantie voor de methylglucaminezouten van de röntgencontrastmiddelen is beter dan voor de Na-zouten. De hoge concentratie Na⁺-ionen in de preparaten voor intraveneuze applicatie irriteert het vaatendotheel, een effect dat geantagoniseerd kan worden door Ca⁺⁺- en Mg⁺⁺-ionen aan de oplossing toe te voegen. Een concentratieverhouding gelijk aan die van het plasma is daarbij van voordeel.

Doorgaans vertonen contrastmiddelen met een hogere eiwitbinding ook een hogere toxiciteit. Een zelfde correlatie lijkt er te bestaan voor de acetylcholine-esteraseremming en de agglutinatie van erythrocyten. Naast de gebruikte zoutvorm en de osmolariteit speelt ook de chemische structuur van het contrastmiddel een rol.

Ondanks het vele onderzoek gewijd aan de toxiciteit van röntgencontrastmiddelen, is de juiste oorzaak voor het optreden van bijverschijnselen bij de intraveneuze pyelografie nog duister. Enkele factoren in dit verband vaak genoemd zijn: een remming van de acetylcholine-esteraseactiviteit, een verdringing van substanties, bv. histamine-achtige, van de plasma-eiwitten of weefseleiwitten, en een agglutinatie en vormverandering van de erythrocyten. In dit laatste geval wordt de long beschouwd als de plaats waar de reacties teweeggebracht worden. Het verband tussen hematologische veranderingen en het optreden van bijverschijnselen is aangetoond. De chemische structuur van het contrastmiddel is medebepalend voor de frequentie der bijverschijnselen.

Voor een allergie, een chemisch-toxische werking of een werking van het con-

trastmiddel als 'histamine liberator' als oorzaak voor de bijverschijnselen zijn onvoldoende argumenten aanwezig.

Voor het zich zo wisselvallig manifesteren van de bijverschijnselen moet mede de oorzaak gezocht worden in de individuele gevoeligheid van de patiënt. Blijkbaar is de kans op het optreden van bijverschijnselen bij patiënten met een overgevoelighedsanamnese groter dan bij andere patiënten. Men kan zich nog afvragen in hoeverre psychische factoren van invloed zijn op het al dan niet optreden van bijverschijnselen.

Waar het betreft de mogelijkheid om bij de intraveneuze pyelografie door langzaam injiceren, dan wel door het gebruik van meer verdunde oplossingen het aantal bijwerkingen te beperken, zijn de meningen nog verdeeld.

The radiopaque diagnostic agents (table 1), used in the intravenous urography, are iodinated organic acids (fig. 1). They have a high radiopacity, a good solubility in water as sodium salt, which can be increased by using methylglucamine salts (table 4), a favourable distribution in the organism, a high LD₅₀ (table 5) and a good tolerance in clinical use; this with the exception of iodopyracet and acetrizoate (table 6). The tolerance of the methylglucamine salts of the contrast-media is greater than of the sodium salts (table 7). The high concentration of sodium ions in the solutions damages or irritates the vascular endothelium. This effect can be antagonized by adding calcium and magnesium to the solution. The concentration ratio of the ions is chosen then equal to the ratio in the plasma. The length of the acyl group(s) in the molecule of the iodinated derivatives of aminobenzoate and diaminobenzoate determines the solubility in water, the route of excretion and the toxicity (figs. 4 and 7). Generally the contrast-media with a high protein binding show a higher toxicity. A same correlation seems to exist for the inhibition of the acetylcholine-esterase activity and the agglutination of erythrocytes. Besides the salts used, and their osmolarity, also the chemical structure of the contrast-media is involved in these various aspects. The manner in which the side-effects are exerted, is not clear in spite of much research. Some factors, often mentioned in this connection, are: an inhibition of the acetylcholine-esterase activity, a displacing of substances from the plasma proteins or tissue proteins and an agglutination and transformation of the erythrocytes. In this last case the lung is considered to be the place, where the reactions are induced. A relation between the agglutination of erythrocytes and the appearance of side-effects is demonstrated. The frequency of side-effects also varies with the chemical structure of the radiopaque agents. For the various mechanisms postulated for the side-reactions such as an allergy, a chemical-toxic action of the contrast-media, or an action of these compounds as histamine liberators, no conclusive arguments are available. Also the individual sensibility of the patient appears to be of importance for the appearance of side-effects. The frequency of reactions is greater with patients with a history of allergy than other patients. Possibly part of the side-effects must be considered as placebo effects, effects not based on a pharmacodynamic action.

LITERATUUR

- ARCHER, S.: Ann. New York Acad. Sc. 1959, 78, 720.
 ATKINS, H. L. en P. J. HODES: Radiol. 1957, 69, 3.
- BABAIAITZ, L. en C. WIESER: Praxis 1955, 20, 454.
 BARKE, R.: Radiol. Diagn. 1965, 197.
 BERNSTEIN, E. F. en R. L. EVANS: J.A.M.A. 1960, 174, 1417.
 BERNSTEIN, E. F., J. D. PALMER, F. A. AABERG en R. L. DAVIS: Radiol. 1961, 76, 88.
 BERNSTEIN, E. F., R. L. EVANS en G. F. SALTZMAN: Acta Radiol. Diagn. 1964, 2, 401.
 BINZ, A.: Z. Urol. 1937, 31, 73.
 BJÖRK, L.: Acta Radiol. Diagn. 1967, 6, 459.
 BODNER, H., A. H. HOWARD en J. H. KAPLAN: J. Urol. 1955, 74, 422.
 BOESCH, D.: Röntgenblätter 1965, 18, 315.
 BOHNE, A. W. en Wm. W. CHRISTESON: Radiol. 1953, 60, 401.
 BOHNE, A. W. en D. R. DREW: A.M.A. Arch. of Surg.: 1956, 73, 927.
 BONATI, F., G. F. ROSATI en M. G. POLETO: Arzneim. Forsch. 1965, 15, 222.
 BRONNER, H., G. HECHT en J. SCHÜLLER: Fortschr. Röntgenstr. 1930, 42, 206.
 BUSFIELD, D., K. J. CHILD en E. G. TOMICH: Brit. J. Radiol. 1962, 35, 815.
- CHAPLIN, H. en E. CARLSSON: Am. J. Roentgen. 1961, 86, 1127.
 CLARK, B. J. en E. G. TOMICH: Brit. Med. J. 1955, ii, 831.
 COTRIM, E. S.: Acta Radiol. 1954, suppl. 116, 58.
 CROCKER, D. en L. D. VANDAM: Clin. Pharmacol. & Therap. 1963, 4, 654.
- DEWS, P. B., V. LLOYD-DWNUCK, R. V. FANELLI, A. E. LIGHT, J. A. TORNABEN, S. NORTON, CH. ELLIS
 en E. J. DE BEER: J. Pharmacol. & Exp. Therap. 1953, 107, 1.
 DOTTER, C. T. en F. S. JACKSON: Radiol. 1950, 54, 527.
 DOTTER, C. T. en M. P. JUDKINS: Radiol. 1964, 82, 225.
 DRUMMY, C. W. W. JR.: New Engl. J. Med. 1953, 249, 970.
- ENGELN, A. J. M. en W. H. A. M. PENN: J. Belge Radiol. 1961, 44, 225.
 EYLER, W. R., D. R. DREW en A. W. BOHNE: Radiol. 1956, 66, 871.
- FINBEY, N., J. A. EVANS en I. STEINBERG: Radiol. 1958, 71, 1.
 FISCHER, H. W. en S. H. CORNELL: Radiol. 1965, 85, 1013.
 FISCHER, H. W. en S. H. CORNELL: Acta Radiol. 1967, 6, 126.
 FREI, A.: Deutsche Med. Wschr. 1954, 44, 1636.
 FURCHGOTT, R. F. en E. PONDER: J. Exper. Biol. 1940, 17, 117.
- GENSINI, G. G. en S. DI GIORGI: Radiol. 1964, 82, 24.
 GILG, E.: Acta Radiol. 1953, 39, 299.
 GLOXHUBER, CHR.: Röntgenblätter 1965, 18, 479.
 GREEN, B. en J. G. SOWERBUTTS: Brit. J. Radiol. 1956, 29, 161.
 GUZMAN, S. V. en J. W. WEST: Amer. Heart J. 1959, 58, 597.

- HARLE, L. E., M. D. SACHS en H. GRABSTALD: A.M.A. Arch. of Surg. 1958, 77, 75.
- HILAL, S. K.: Radiol. 1966, 86, 615.
- HILDRETH E. A., H. P. PENDERGRASS, R. L. TONDREAU en D. J. RITCHIE: Radiol. 1960, 74, 246.
- HOEY, G. B., R. D. RAND, G. DELA MATES, D. W. CHOPMAN en P. E. WIEGERT: J. Med. Chem. 1963, 6, 24.
- HOPPE, J. O., A. A. LARSEN en F. COULSTON: J. Pharmacol. & Exp. Therap. 1956, 116, 394.
- IVEMARK, B. en S. I. SELDINGEN: Acta Radiol. 1957, 48, 366.
- JEPSEN, L. en J. FOG: Ugeskr. Laeger 1963, 125, 1198.
- KIMBEL, K. H. en W. BÖRNER: Arch. Exper. Path. & Pharmacol. 1955, 226, 262.
- KLEMMER, C. J. en J. H. HUNTER: J. Org. Chem. 1940, 5, 227.
- KLOSE, D.: Med. Welt 1966, 17, 1481.
- KNOEFEL, P. K. en K. C. HUANG: J. Pharm. & Exp. Therap. 1956, 117, 307.
- KNOEFEL, P. K.: Radiopaque diagnostic agents; Thomas, Springfield, USA 1961.
- KODAMA J. K., W. H. BUTLER, TH. W. TUSING en F. P. HALLETT: Exp. Molecular Path. 1963, 2, 65.
- LANG, E. K.: Radiol. 1965, 85, 666.
- LANGECKER, H., A. HARWART en K. JUNKMANN: Arch. Exper. Path. & Pharmacol. 1953, 220, 195.
- LANGECKER, H., A. HARWART en K. JUNKMANN: Arch. Exper. Path. & Pharmacol. 1954, 222, 584.
- LARSEN, A. A., C. MOORE, J. SPRAGUE, B. CLOKE, J. MOSS en J. O. HOPPE, J. Am. Chem. Soc. 1956, 78, 3210.
- LASSER, E. C., R. S. FARR, T. FUJIMAGARI en W. N. TRIPP: Am. J. Roentgen. 1962, 87, 338.
- LASSER, E. C. en J. H. LANG: Invest. Radiol. 1966, 1, 237.
- LÉLEK, I. en L. POKORNY: Radiobiol. Radiother. 1965, 6, 265.
- LÉLEK, I. en L. POKORNY: Fortschr. Röntgenstr. 1967, 106, 24.
- LENTINO, W., B. E. ZEITEL, H. G. JACOBSON en M. H. POPPEL: J.A.M.A. 1956, 161, 606.
- LINDGREN, P.: Acta Radiol. 1959, 51, 353.
- LINDGREN, P. en G. F. SALTZMAN: Acta. Radiol. 1963, 57, 341.
- LINDGREN, P., B. LÖFSTRÖM en G. F. SALTZMAN: Acta. Radiol. Diagn. 1964, 2, 334.
- LUNDBECK & CO.: Medizinische Information, 1956.
- MATHEWS, P. W.: Sth. Med. J. 1959, 52, 170.
- MAURER, H. J., R. DOEFMER, W. M. BARTSCH, W. VAHLENSIECK en E. VLEUGELS: Radiologie 1965, 5, 157.
- McCLENAHAN, J. L., K. L. KLOTZ en B. W. WILSON: Radiol. 1963, 80, 96.
- MCCHESNEY, E. W. en J. O. HOPPE: Am. J. Roentgen. 1957, 78, 137.
- MELLINK, J. H.: J. Belge Radiol. 1961, 44, 107.
- DU MESNIL DE ROCHEMONT, R. en H. ST. STENDER: Radiologie 1965, 5, 156.
- MESSMANN, S. P. en N. J. DOORENBOS: Ann. Internal Med. 1957, 47, 1036.
- MOORE, TH. D. en N. SANDERS: J. Urol. 1953, 70, 538.
- NESBIT, R. M.: J. Urol. 1959, 81, 486.
- NESBIT, R. M.: Ann. New York Acad. Sc. 1959, 78, 852.
- NYEGAARD & CO.: Isopaque, basic data, 1964.
- OESER, H. en V. TAENZER: Radiologie 1965, 5, 167.
- OGDEN, H. S. en G. E. SHELINE: J. Laborat. Clin. Med. 1959, 54, 1.
- OLSSON O.: Acta Radiol. 1951, 35, 65.
- ORR, L. M. en J. L. CAMPBELL: J.A.M.A. 1959, 169, 1156.
- OSBORN, E. D., C. G. SUTHERLAND, A. J. SCHOLL JR. en L. G. ROWNTREE: J.A.M.A. 1923, 80, 368.

- PIZON, P.: La Presse Médicale 1956, 64, 1107.
- PORPORIS, A. A., G. V. ELLIOTT, G. L. FISCHER en B. MUELLER: Am. J. Roentgen. 1954, 72, 995.
- POULIE, N. J.: J. Belge Radiol. 1961, 44, 127.
- RAND, P. W. en E. LACOMBE: J. Clin. Invest. 1964, 43, 2214.
- RAND, P. W. en E. LACOMBE: Radiol. 1965, 85, 1022.
- RICHARDSON, J. F. en D. K. ROSE: J. Urol. 1950, 63, 1113.
- ROBBINS, L. L., H. FLETSCHER, F. H. COLLY, J. L. SOSMAN en W. R. EYLER: Radiol. 1951, 56, 684.
- ROOT, J. C. en W. C. STRITTMATTER: Am. J. Roentgen. 1955, 73, 768.
- ROSENO, A.: Klin. Wschr. 1929, 8, 1623.
- ROTH, M. en TH. A. NICHOLSON: J. Urol. 1957, 77, 670.
- RUBIN, M. en G. DI CHIRO: Ann. New York Acad. Sc. 1959, 78, 764.
- SANDSTROM, C.: Acta Radiol. 1953, 39, 281.
- SANDSTROM, C.: Acta Radiol. 1955, 44, 234.
- SANGER, M. D.: Ann. Allergy 1959, 17, 762.
- SCHOEN, D.: Med. Welt 1962a, 3, 144.
- SCHOEN, D.: Med. Welt 1962b, 4, 200.
- SCHMIEDT, E., K. F. ALBRECHT, K. POLLE en H. H. LUBNIUS: Munch. Med. Wschr. 1957, 45, 1688.
- SCHUSZLER, R.: Fortschr. Roentgenstr. 1962, 97, 649.
- SESSIONS, R. T., E. W. WINFREY, D. A. KILLEN en J. H. FOSTER: Surg. Gyn. Obstr. 1962, 115, 187.
- SHAPIRO, R. en D. PAPA: Ann. New York Acad. Sc. 1959, 78, 756.
- SHEHADI, W. H.: Am. J. Roentgen. 1966, 97, 762.
- SOBIN, S. S., W. G. FRASHER, G. JACOBSON en F. A. VAN EECKHOVEN: J.A.M.A. 1959, 170, 1546.
- SPEICHER, M. E.: Am. J. Roentgen. 1956, 75, 865.
- STUART, C.: Radiologe 1965, 5, 171.
- SVOBODA, M.: Radiologe 1965, 5, 184.
- SWICK, M.: Klin. Wschr. 1929, 8, 2087.
- SWICK, M.: J.A.M.A. 1933, 101, 1853.
- TATELMAN, M. en R. S. PAKUSCH: Radiol. 1958, 70, 238.
- TESKE, H. J.: Fortschr. Rontgenstr. 1964, 100, 525.
- THORÉN, A.: Acta Endocr. 1960, 35, 351.
- TUCKER, A. S. en G. DI BAGNO: Am. J. Roentgen. 1956, 75, 855.
- UTZ, D. C. en G. J. THOMPSON: Proc. Staff Meet. Mayo Clin. 1958, 33, 4.
- VAN VELZER, D. A., C. H. BURGE en R. S. MACINTYRE: Radiol. 1962, 79, 934.
- VOLKMANN, J.: Deutsch. Med. Wschr. 1924, 50, 1413.
- VOORHORST, R.: Ned. T. Geneesk. 1965a, 109, 376.
- VOORHORST, R.: Ned. T. Geneesk. 1965b, 109, 425.
- WALLINGFORD, V. H., H. G. DECKER en M. KRIJTY: J. Am. Chem. Soc. 1952, 74, 4365.
- WALLINGFORD, V. H.: J. Am. Pharm. Ass. (Scient. Ed.) 1953, 42, 721.
- WIENERS, H.: Radiologe 1965, 5, 177.
- WINTER, C. C.: J. Urol. 1955, 74, 416.
- ZEITEL, B. E., W. LENTINO en H. G. JACOBSON: J. Urol. 1956, 76, 461.
- ZSEBOCK, Z. B. en L. SZLAVY: Fortschr. Rontgenstr. 1966, 105, 406.

RÖNTGENCONTRASTMIDDELEN EN HUN UITSCHIEDING DOOR DE NIER

I. INLEIDING

In dit hoofdstuk willen we aan de hand van de gegevens uit de literatuur aandacht besteden aan de wijze waarop röntgencontrastmiddelen door de nieren uit het organisme kunnen worden geëlimineerd.

Alvorens tot de bespreking hiervan over te gaan, lijkt het wenselijk eerst na te gaan over welke mechanismen de nier beschikt om organische substanties uit te scheiden. Hierbij zullen tevens de verschillende factoren worden besproken, welke op een of andere wijze van invloed zijn op de transportmechanismen, om hierdoor een indruk te krijgen van de mogelijkheden om de uitscheiding van organische substanties te bevorderen. Vanzelfsprekend zal speciaal de nadruk worden gelegd op die transportmechanismen welke van betekenis zijn voor de excretie van organische zuren, waartoe vrijwel alle röntgencontrastmiddelen voor de intraveneuze pyelografie gerekend kunnen worden.

Achtereenvolgens zullen worden behandeld:

1. de glomerulaire ultrafiltratie,
2. de actieve tubulaire excretie,
3. de passieve tubulaire terugdiffusie,
4. de vorming van conjugaten door de nier.

De uiteindelijke snelheid van excretie van een substantie in de urine is afhankelijk van de mate van deelname van genoemde uitscheidingsmechanismen, zodat de hoeveelheid stof die uitgescheiden wordt gelijk is aan de som van de hoeveelheden geütrafiltreerd door de glomeruli en actief tubulair uitgescheiden, eventueel als conjugaten, verminderd met de hoeveelheid welke tubulair is teruggediffundeerd. De meeste gegevens zijn ontleend aan de boeken: *The Kidney* (Smith 1951), *Principles of Renal Physiology* (Smith 1956), *Molecular Pharmacology* (Ariëns 1964) en *Metabolic Aspects of Renal Function* (Lotspeich 1959), en aan de artikelen van Brodie en Hogben (1957), Milne en medewerkers (1958),

Schanker (1962), Taggart (1958), Weiner en Mudge (1964) en aan publikaties uit het internationale symposium: Diurese und Diuretica (1959).

II. GLOMERULAIRE ULTRAFILTRATIE

Onder invloed van drukverschillen aan weerskanten van de glomerulusmembraan kunnen stoffen, afhankelijk van hun molecuulgrootte en vrije plasmaconcentratie, met het plasmavocht mee geïltrateerd worden. De filtratiedruk wordt bepaald door de capillaire bloeddruk enerzijds en de colloïd-osmotische druk en de druk in het kapsel van Bowman anderzijds.

Doordat de capillaire bloeddruk groter is dan de colloïd-osmotische druk van het plasma, kan het glomerulusfiltraat ontstaan. De druk in de glomerulus bedraagt bij de mens ongeveer 70-90 mm Hg, terwijl de gemiddelde osmotische druk van de plasma-eiwitten ligt in de buurt van 24 mm Hg. De druk in het kapsel van Bowman is ongeveer 10 mm Hg. Het drukverschil is groot genoeg om 1/5 deel van het plasma, dat de nieren passeert, te filtreren. Bij de mens bedraagt de hoeveelheid plasma welke de nieren per minuut doorstroomt ongeveer 650 ml. Aan ultrafiltraat wordt dan ongeveer 120 ml per minuut gevormd. Ter bepaling van de hoeveelheid filtraat welke per minuut wordt gevormd wordt gebruik gemaakt van de clearance van een stof. De clearance geeft weer die hoeveelheid plasma welke per minuut van een bepaalde stof wordt ontdaan. Van substanties welke op geen andere wijze dan door filtratie worden uitgescheiden en niet teruggeresorbeerd of teruggediffundeerd worden, mag de clearance gelijk gesteld worden aan de gefiltreerde hoeveelheid plasma per minuut. Dit geldt alleen voor die stoffen waarvan het molecuul die grootte heeft dat het goed filtrabel is, waarvan geen of een te verwaarlozen plasma-eiwitbinding optreedt, die fysiologisch en farmacologisch inert zijn ten opzichte van de circulatie en vooral voor de niercirculatie en die geen invloed ondergaan van de uitscheiding van andere stoffen.

Over het algemeen wordt gesteld dat de bovengrens van de molecuulgrootte even onder de moleculaire afmeting van albumine ligt.

De meest bekende stoffen die gebruikt worden om de glomerulaire filtratie te bepalen zijn inuline, endogeen creatinine bij de mens en exogeen creatinine bij de hond. De clearance van deze substanties is bij elke plasmaconcentratie dezelfde. Voor de berekening van de clearance dient men te weten: de plasmaconcentratie van een substantie, $[S]_p$, de concentratie ervan in de urine, $[S]_u$, en het aantal ml urine dat per minuut geproduceerd is (V). De concentraties

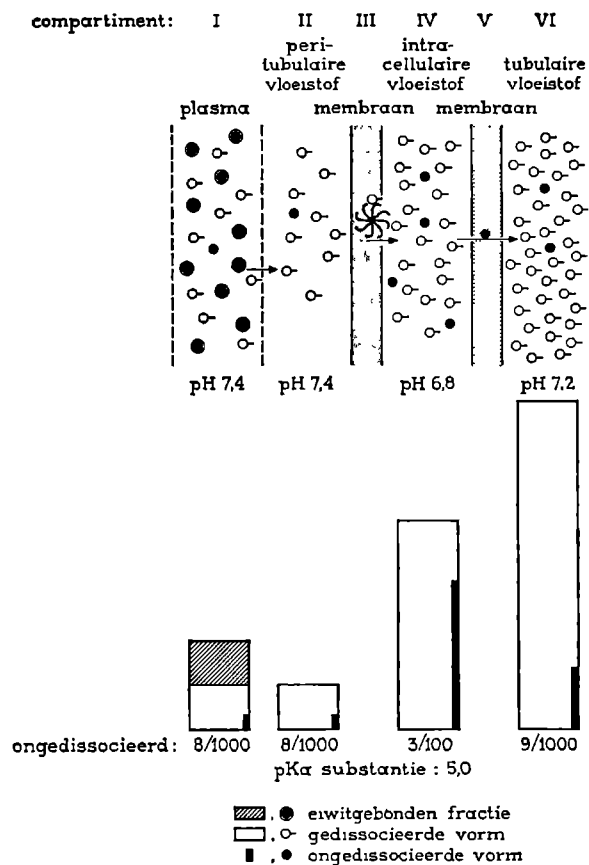
worden berekend in mg per ml. De clearance wordt dan als volgt weergegeven:

$$\text{clearance} = \frac{[S]_u \cdot V}{[S]_p} \text{ ml/min}$$

Aangezien de filtratie plaatsvindt op basis van een hydrostatisch en osmotisch drukverschil is hier sprake van een passief transport. Het glomerulaire filtraat is in zijn samenstelling identiek aan eiwitvrij plasma, wanneer men althans de geringe invloed van het zogenaamde Donnan-effect verwaarloost.

III. ACTIEF TUBULAIR TRANSPORT

Voor een aantal organische substanties, met name ook voor verschillende organische zuren, is het bekend dat de clearance groter is dan die van inuline of creatinine, terwijl zij bovendien afhankelijk is van de plasmaconcentratie. Verder blijkt dat bij blokkeren van de metabole processen, bv. met behulp van 2,4-dinitrofenol (Mudge c.s. 1950^a), de clearance van deze substanties aanzienlijk vermindert. Dit betekent dat het transport, althans een van de stappen in het transport van de betrokken organische substanties van het plasma naar de tubulusurine, in de proximale tubuli direct energie-afhankelijk is, zodat er sprake is van een actief transport. Het betrokken transportmechanisme verwerkt een grote variëteit van zuren, die elkander van dit systeem kunnen verdringen. Dit houdt tevens in dat bij hoge concentraties in het plasma er een verzadiging van het transportsysteem optreedt. Daar waar sprake is van het transport van de stof uit plasma naar urine, vooral voor zover dit plaatsvindt aan het einde van de proximale en in de distale tubuli, dient men er rekening mee te houden dat als gevolg van de terugresorptie van zouten en terugdiffusie van water ($\pm 90\%$) in het proximale deel van het nefron de concentratie van de uit te scheiden stof in de tubulusurine behoudens terugdiffusie ervan ongeveer het 10-voudige zal zijn van de concentratie van deze stof in ongebonden vorm in het plasma. Het actief-transportproces zal dus deze reeds bestaande concentratiegradiënt moeten overwinnen. In het eenvoudigste geval speelt bij het totale transportproces slechts in één fase het actieve transport een rol, waarbij dan de verdere verplaatsing van de stof kan berusten op vrije diffusie. De vraag rijst waar de actieve fase mogelijk gelokaliseerd is. In aanmerking genomen de anatomische en histologische verhoudingen ligt het voor de hand het totale transportproces van plasma naar tubulusurine op te splitsen in een aantal fasen (figuur 1).



FIGUUR I: Schematische voorstelling van de verschillende compartimenten waardoor het transport van een organisch zuur vanuit het plasma naar de tubulusurine plaatsvindt.

Opmerking: de kolommen onder compartiment I, II, IV en VI geven weer de concentratieverhouding tussen de geïoniseerde en neutrale vorm van de substantie in het betreffende compartiment bij de opgegeven pH en een pK_a voor het organische zuur van 5,0. In compartiment I is een plasma-eiwitbinding aangenomen van 50 %.

FIGURE I: Schematic representation of the various compartments through which the transport of an organic acid from plasma into the tubular urine takes place.

Note: the columns below compartment I, II, IV and VI represent the concentration ratio between the ionized and unionized form of the substance in the compartment concerned at the pH mentioned. The pK_a of the organic acid is 5.0. In compartment I the plasma protein binding of the substance is assumed to be 50 %.

1. *Transport door de verschillende compartimenten*

a. *Plasma (compartiment I)*

In het plasma kan als gevolg van eventuele binding van de uit te scheiden stof aan plasma-eiwitten (in het bijzonder albumine), de effectieve concentratie van die stof, afhankelijk van de mate van binding, slechts een fractie zijn van de totale plasmaconcentratie. Alleen de stof in ongebonden vorm kan primair deelnemen aan diffusieprocessen via vaatwand en celmembranen en opgenomen worden in verschillende transportprocessen, hetzij actief, hetzij passief, bv. waar het betreft binding aan dragers (carriers) welke bij het transport een rol kunnen spelen. Ook voor bepaalde röntgencontrastmiddelen treedt eiwitbinding op (hoofdstuk IV). Bij dalen van de concentratie van het farmacon in de ongebonden vorm bv. als gevolg van diffusie naar de interstitiële vloeistof, vindt uiteraard nalevering plaats als gevolg van dissociatie van het eiwit-farmaconcomplex. Wanneer de snelheid van dissociatie voldoende groot is, - zo groot, dat zij zich afspeelt binnen de tijdsspanne waarin bv. de passage van het plasma langs de tubuli plaatsvindt - kan dit betekenen dat toch het plasma voor vrijwel 100% ontdaan wordt van de betrokken stof.

b. *Peritubulaire ruimte (compartiment II)*

Het volgende compartiment van betekenis is de interstitiële vloeistof in de peritubulaire ruimte. Voor het bereiken van deze ruimte heeft slechts de vaatwand gepasseerd te worden. De verhoudingen die zich hierbij voordoen zijn vergelijkbaar met die bij de ultrafiltratie in de glomeruli. Dit betekent dat de concentratie van de stof in de peritubulaire ruimte ten hoogste gelijk zal zijn aan de concentratie van de stof in ongebonden vorm in het plasma. De door ons te bespreken röntgencontrastmiddelen zijn als regel relatief sterke zuren. Bij de pH van het interstitiële vocht zijn zij voor een belangrijk deel aanwezig in de geïoniseerde (geladen) vorm en slechts voor een betrekkelijk kleine fractie in de ongedissocieerde vorm. Van een stof als PAH (para-aminohippuurzuur) met een pK_a -waarde van 3,8 is bij een pH 7,4 meer dan 99,9% in de gedissocieerde en minder dan 0,1% in de ongedissocieerde vorm aanwezig. Het is van belang hiermee rekening te houden, vooral met het oog op de volgende fase van het transport, via de celmembraan de cel in.

c. *Peritubulaire celmembraan (compartiment III)*

Celmembranen hebben het karakter van lipide membranen, voorzien van kleine

poriën. Dit betekent dat alleen kleine geladen deeltjes zoals anorganische ionen deze poriën kunnen passeren. Grotere organische moleculen, zoals de röntgen-contrastmiddelen, kunnen deze poriën niet passeren. Behoudens actief of carrier-gebonden transport blijft hiervoor slechts de weg van diffusie door de lipide gedeelten van de membranen over. Het is daarmee duidelijk dat slechts een relatief kleine fractie van de beschikbare totale concentratie, nl. de fractie in ongedissocieerde vorm primair aan dit proces kan deelnemen. Uiteraard bestaat weer wel de mogelijkheid van nalevering door verschuiving van de gedissocieerde naar de ongedissocieerde vorm, wanneer de concentratie van deze laatste daalt.

d. Intracellulaire vloeistof (compartiment IV)

In het volgende compartiment, de intracellulaire vloeistof, vindt het transport van de stof - in aanmerking genomen de te overbruggen afstand- waarschijnlijk plaats door vrije diffusie van geïoniseerde zowel als ongeïoniseerde vorm. Mogelijk is hierbij een binding van een deel van de stof aan proteïnen en andere celcomponenten in het spel.

e. Tubulaire celmembraan (compartiment V)

Voor de laatste stap van het transport door de tubuluswand, het passeren van de celmembraan aan het tubulaire lumen, geldt in principe hetzelfde als gesteld voor de celmembraan aan de peritubulaire zijde. Ook hier vindt, behoudens eventueel actief transport of carrier-gebonden transport, passage plaats via de lipide fase. Dit houdt in dat de ongedissocieerde vorm daarbij primair in het geding is.

f. Tubulusurine (compartiment VI)

Tot slot het uiteindelijk ontvangende compartiment, de tubulusurine. Zoals reeds werd aangegeven zal als regel door de terugresorptie van zouten en daarmee een teruggediffusie van water de concentratie van de stof in dit compartiment ongeveer het 10-voudige zijn van de ongebonden concentratie in plasma, en daarmee, voor geval er een evenwichtstoestand heerst, het 10-voudige van de concentratie ongebonden stof in het intracellulaire compartiment. Hierbij wordt aangenomen dat de pH daar gelijk is aan die in het plasma. Zoals gezegd is de concentratie van de stof in de tubulusurine hoog vergeleken met die in het plasma. Men kan stellen dat bij uniforme pH door het gehele systeem dan ook de concentratie in de ongedissocieerde vorm in de tubulusurine hoger is

dan die in het plasma en de overige compartimenten. Dit betekent dat teruggdiffusie van de stof naar het plasma zal plaatsvinden. Dit is in de distale tubuli het geval. Door verandering van de pH in de tubulusurine kan in het geval van de als röntgencontrastmiddelen gebruikte organische zuren de concentratie in de ongedissocieerde vorm gewijzigd worden. Is de pH in de urine lager dan in de overige compartimenten dan zal de neiging tot teruggdiffusie zelfs versterkt worden. In het omgekeerde geval kan door verhoging van de pH van de tubulusurine de concentratie van de ongedissocieerde vorm verlaagd worden zodat die gelijk wordt aan die in de overige compartimenten, waardoor de teruggdiffusie tot practisch nul gereduceerd wordt. De vraag of de betrokken stof inderdaad zal teruggdiffunderen via de lipide membranen, ook in de ongedissocieerde vorm, hangt uiteraard mede af van de vetoplosbaarheid van de betrokken stof. De pH in het urinecompartiment kan dus van grote invloed zijn op de mate van teruggdiffusie, welke vooral in het meer distale gedeelte van de tubuli en in de verzamelbuizen plaatsvindt, maar uiteraard ook meer proximaal in het geding zou kunnen zijn.

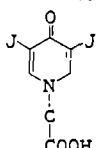
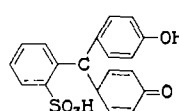
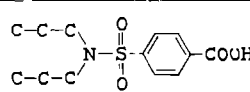
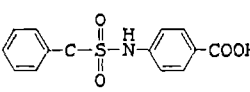
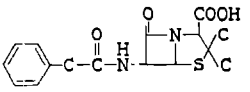
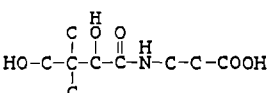
2. Actief-transportmechanisme

Organische zuren, waartoe ook de hier te bespreken röntgencontrastmiddelen behoren, zullen, voor zover actief getransporteerd, gebruik maken van het systeem voor de actieve uitscheiding van zuren in het algemeen. Ten aanzien van dit systeem is aangetoond dat verschillende organische zuren elkaar onderling kunnen verdringen. Naast dit zuren-transporterende systeem is een soortgelijk systeem bekend voor organische basen. De eigenschappen van de verschillende organische zuren die door het betrokken transportsysteem geaccepteerd worden, lopen sterk uiteen. Het betreft een grote variëteit van organisch-chemisch nauwelijks verwante stoffen (tabel 1). Als vrijwel enig gemeenschappelijk kenmerk hebben deze stoffen dat zij bij de pH in de peritubulaire ruimte voor een belangrijk gedeelte aanwezig zijn in de gedissocieerde vorm. Ze zijn dus voorzien van een negatief geladen groep, terwijl verder als regel in beperkte mate lipofiele groepen aanwezig zijn. Bij versterking van het lipofiele karakter vindt verschuiving van de uitscheiding naar het lever-galsysteem plaats. Een en ander pleit ervoor dat de betrokken stoffen in de geïoniseerde vorm door het transportsysteem 'herkend', resp. opgenomen en verwerkt worden. Zoals vermeld, is in de peritubulaire ruimte van verschillende organische zuren minstens 99,9 % in geïoniseerde en dus in een voor directe deelname aan het trans-

TABEL 1: Enkele organische zuren welke worden uitgescheiden door een actief-transportproces in de tubuli.

TABLE 1: Some organic acids which are excreted by the active tubular transport process.

NOTE: The possession of a negatively charged group is the only common characteristic of these compounds.

organisch zuur	structuurformule	negatief geladen groep
Iodopyracet		COO ⁻
Fenolrood		SO ₃ ⁻
Probenecid		COO ⁻
Carinamide		COO ⁻
Penicilline G		COO ⁻
Pantotheenzuur		COO ⁻
Oxaalzuur	HOOC-COOH	COO ⁻

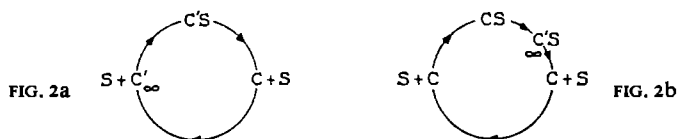
port geschikte vorm aanwezig. Samenvattend kan men stellen dat slechts een kleine fractie in een voor vrije diffusie via de membranen geschikte vorm en een grote fractie in een voor eventueel actief transport geschikte vorm aanwezig is. De vraag rijst nu: in welke van de verschillende compartimenten vindt het actieve transport plaats? Als meest voor de hand liggende lokalisatiemogelijkheid gelden de celmembranen. Dit zou betekenen dat het actieve transport gelokaliseerd kan zijn in compartiment III, in welk geval het farmacon actief

de cel ingepompt zou worden, dan wel in compartiment V in welk geval de stof actief de cel uitgepompt zou worden. Bij het overwegen van een mogelijk antwoord op deze vraag is het nodig enig inzicht te hebben in de belangrijkste eigenschappen van het actief-transportstelsel. Strikt genomen bestaan er hier velerlei modellen en mogelijkheden. De meest gangbare modellen maken gebruik van een fase waarbij binding van het substraat (S) aan een drager (C) plaatsvindt, terwijl ruimtelijk daarvan gescheiden weer dissociatie van het substraat-dragercomplex (CS) plaatsvindt.

Uit het feit dat er verschillende transportsystemen bestaan, één voor de organische zuren en één voor organische basen, kan men aannemen dat bij de vorming van een substraat-carriercomplex een chemische bindingstoestand, welke reversibel is, een rol speelt. Organische basen blijken niet in staat het actieve tubulaire transport van organische zuren te blokkeren en omgekeerd. Voor organische zuren zou de carrier kunnen bestaan uit een celcomponent met een 'cationic site' als complement van de 'anionic group' van de te transporteren zuren. Zoals gezegd gaat het om een actief-transportproces, hetgeen betekent dat bij een van de stappen energie verbruikt wordt. Dit zou kunnen zijn bij de vorming van het substraat-carriercomplex. Er wordt wel verondersteld dat de carrier in een reactieve staat moet worden gebracht (C'), hetgeen geschiedt door de energierijke fosfaten (Taggart 1958). Het kan zijn dat het substraat-carriercomplex zelf geactiveerd wordt en daarna gemakkelijk dissocieert, terwijl tenslotte de mogelijkheid bestaat dat bij de dissociatie energie vereist is. Het eigenlijke transport, de ruimtelijke verplaatsing van het substraat dus van de ene buitenzijde van de membraan naar de andere buitenzijde, zou plaatsvinden door diffusie van het substraat in de gebonden vorm (Wilbrandt c.s. 1961). In figuur 2 zijn genoemde suggesties schematisch weergegeven.

In elk van deze gevallen vormt de concentratie waarin het substraat wordt aangeboden een belangrijke factor voor het verloop van de transportreacties. Daar het hier gaat om een actief-transportproces, hetgeen een gerichtheid in het transport inhoudt, ligt het voor de hand dat een substraat-inhibitie na de ontkoppeling in de laatste stap geen rol van betekenis speelt. Hoge concentraties van S aan de uitgang van het transportproces storen dan niet.

Voor toelevering van substraat is de lokalisatie het gunstigst in compartiment III aangezien daarin vanuit het plasma vrijwel ongehinderd toevoer van het substraat in een voor transport geschikte vorm (geïoniseerd) plaatsvindt, aangenomen dat de dissociatiesnelheid van het eventuele eiwit-substraatcomplex voldoende groot is. In aanmerking genomen de diffusiebarrière in compartiment



FIGUUR 2: Schematische weergave van twee mogelijkheden voor de actieve fase van het transport.

- De carrier is eerst in een reactieve staat gebracht voordat het substraat-carrier-complex kan worden gevormd.
- Nadat het substraat-carriercomplex is gevormd, wordt het complex geactiveerd, waarna een gemakkelijke dissociatie plaatsvindt.

FIGURE 2: Schematic representation of two possibilities for the active phase of the transport.

- The carrier is first brought into a reactive state before the substrate-carrier complex can be formed.
- After forming of the substrate-carrier complex, the complex is activated after which a dissociation can take place.

III, die toelevering van het substraat naar compartiment IV belemmert, - de diffusie vindt plaats in de ongedissocieerde vorm en als zodanig staat slechts een geringe fractie van het substraat ter beschikking -, kan gesteld worden, dat voor de voorziening van het actief-transportstelsel met substraat een lokalisatie in compartiment V minder gunstig is. Bij deze lokalisatie zou het pompsysteem als het ware een soort vacuum scheppen in compartiment IV. Dit zou kunnen wijzen op een lokalisatie van de pomp in compartiment III als voorkeurplaats. Als dit het geval is, dan zal als gevolg van het actieve transport intracellulair, dus in compartiment IV, een relatief hoge concentratie van het substraat opgebouwd worden. Er ontstaat dan een concentratiegradiënt tussen het intracellulaire compartiment en de tubulusurine. Gezien het relatief kleine volume van het intracellulaire compartiment moet het mogelijk zijn de relatief hoge concentratie in de tubulusurine dusdanig te overtreffen dat een passief transport in die richting tot stand komt. Echter ook hier komt weer alleen de ongedissocieerde fractie voor deelname aan dit passieve transport in aanmerking, zodat bij een intracellulaire pH welke lager is dan de pH in de tubulusurine de totale concentratie van de stof intracellulair lager kan blijven dan in de tubulusurine. Een moeilijkheid bij deze situatie vormt het feit dat een diffusie vanuit compartiment IV naar de peritubulaire ruimte gemakkelijker zou plaatsvinden dan naar de tubulusurine. In aanmerking genomen de lage pH van de urine in vergelijking tot die van de interstitiële vloeistof zal dit verschijnsel zich extra sterk doen gelden waar het de organische zuren betreft, zoals de röntgencontrastmiddelen. Gesteld nu een lokalisatie van het actieve transport in compar-

timent V; zoals gezegd is daarbij de situatie voor de aanvoer van het substraat ongunstig. Een wezenlijk voordeel is echter dat hoge concentraties van het substraat intracellulair vermeden worden. Dit is een voordeel, enerzijds omdat de kans op teruggdiffusie in de richting van peritubulaire vloeistof en plasma daardoor geringer wordt, anderzijds omdat hoge concentraties van lichaamsvreemde stoffen intracellulair op zich niet erg voor de hand liggen. Deze beschouwing levert weliswaar geen definitief antwoord voor de plaats voor de lokalisatie van het actief-transportproces; ze belicht echter bepaalde aspecten van belang voor het inzicht in het actieve transport van organische zuren en basen naar de tubulusurine. In de volgende secties zullen experimentele gegevens die een aanwijzing verstrekken voor de mogelijke lokalisatie van het actief-transportproces, nader besproken worden, mede tegen de achtergrond van het voorgaande.

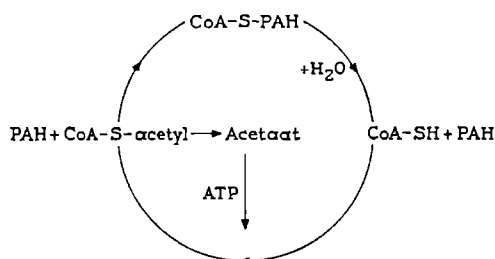
3. Enkele factoren mogelijk van invloed op het actieve transport

a. Enzymen en celmetabolisme

Er zijn experimentele gegevens die erop wijzen dat enzymen betrokken zijn bij het actieve transport van organische zuren. Een remming van het actieve tubulaire transport van PAH, fenolrood en iodopyracet treedt op bij toediening van 2,4-dinitrofenol (Foulkes c.s. 1959, Mudge c.s. 1950^a, 1950^b en Woo c.s. 1963). Ook het florizine remt de tubulaire uitscheiding van organische zuren (Cross c.s. 1950). Het 2,4-dinitrofenol en florizine remmen de oxydatieve fosforylering waardoor de vorming van ATP (adenosine-trifosfaat) wordt geblokkeerd. Deze waarnemingen suggereren dat de energie, noodzakelijk voor het actieve tubulaire transport, o.a. van de aërobe fosforylering afkomstig is. Een intacte oxydatieve fosforylering en daarmee een onveranderde structuur van de mitochondriën is dan voor het actieve transport essentieel (Beyer c.s. 1950). Men dient echter wel te bedenken dat de genoemde enzymremmers niet specifiek zijn voor de aërobe fosforylering, maar in het algemeen gerangschikt mogen worden onder de stoffen die toxisch zijn voor de celstofwisseling en beschadiging kunnen geven van celmembranen (Richterich 1959). Uit het feit dat de mitochondriën voornamelijk gelokaliseerd zijn aan de peritubulaire zijde van de tubuluscel zou geconcludeerd mogen worden dat in compartiment III van het transportsysteem voldoende energie geleverd kan worden voor een actief transport. Met *in vitro* experimenten met radioactief gemerkt PAH (C¹⁴) heeft men kunnen vaststellen dat de opname van deze stof in de tubuluscel door

2,4-dinitrofenol geblokkeerd wordt (Foulkes c.s. 1959). Deze bevinding suggereert ook dat het actief-transportproces zich afspeelt aan de peritubulaire zijde van de tubuluscel.

Azijnzuur is van belang voor het metabolisme van de cel. Deze stof, toegediend als Na-acetaat, blijkt de tubulaire excretie van PAH en fenolrood te verhogen (Mudge c.s. 1950^b, Shideman c.s. 1952, Woo c.s. 1963). Een soortgelijk effect op de excretie van PAH is vermeld voor Na-lactaat, terwijl Na-fumaraat en Na-succinaat een daling van de tubulaire excretie van PAH veroorzaken (Smith 1951). Men tracht het effect van Na-acetaat te verklaren uit het feit dat via de vorming van acetyl-coenzym A deze substantie een rol speelt bij de energielevering (Taggart 1958). Ook is het acetyl-coenzym A gepostuleerd als de geactiveerde carrier. Bij het PAH-transport zou dan een acyl-uitwisselingsreactie optreden met acetyl-coenzym A, analoog aan die weergegeven in figuur 2a (figuur 3). Een binding van coenzym A aan de carboxylgroep van



FIGUUR 3. Schematische weergave van de actieve fase van het transport, waarbij acetyl-coenzym A de geactiveerde carrier voorstelt.

FIGURE 3: Schematic representation of the active phase of the transport in which acetyl-coenzyme A represents the activated carrier.

PAH lijkt niet waarschijnlijk omdat met radioactief gemerkt PAH (O^{18}) geen verlies van O^{18} wordt gevonden tijdens het tubulaire transport van PAH (Taggart 1958). Het effect van Na-acetaat op de excretie van organische zuren blijft een duistere zaak. Wel is waargenomen met *in vitro* experimenten dat Na-acetaat de opname van PAH en fenolrood in de cellen verhoogt (Cross c.s. 1950). De invloed van Na-acetaat op het actieve transport van organische zuren lijkt zich derhalve weer af te spelen bij compartiment III. De verhoogde uitscheiding van PAH bij toediening van Na-acetaat kan nog het gevolg zijn van

een verhoging van de pH van de urine. Natriumbicarbonaat, dat de urine alkalisch maakt, blijkt de PAH-excretie niet te beïnvloeden (Taggart 1958).

b. pH van de urine

In de proximale tubuli vinden behalve een actieve excretie van organische substanties ook nog andere transporten plaats, welke bijdragen tot een modificatie van het glomerulaire filtraat. Zo treedt in dit deel van het nefron een eerste verandering op in de pH van de tubulusurine door uitwisseling van Na^+ -ionen tegen H^+ -ionen (Gottschalk c.s. 1959, 1960 en Hierholzer 1961). De daling van de pH van tubulusurine in het proximale deel van het nefron is overigens maar gering en bedraagt doorgaans niet meer dan 0,4 eenheid (Gottschalk c.s. 1960). Aangezien mag worden aangenomen dat de pH in de tubuluscel ongeveer 6,8 bedraagt zoals o.a. gevonden in spiercellen (Hastings 1966), mag worden verondersteld dat een diffusie van de niet-geïoniseerde vorm van een organisch zuur vanuit de cel naar de urine maar gering zal zijn op grond van de lage pH-gradiënt. Anderzijds zou mogen worden verwacht dat bij een verhoging van de pH van de urine het transport naar het tubuluslumen zal toenemen voor zover afhankelijk van passieve diffusie van de neutrale vorm. Het feit dat het pH-verschil tussen tubulusurine en tubuluscel onder fysiologische omstandigheden bijzonder gering is, maakt een passief transport door compartiment V, ofwel het membraan aan de tubulaire zijde van de tubuluscel, weer enigszins twijfelachtig. Een diffusie in deze fase kan alleen nog worden aangenomen wanneer de concentratiegradiënt tussen cel en tubulusurine voldoende groot wordt. Anderzijds zou men kunnen veronderstellen dat in deze fase van het transport het actief-transportmechanisme gelokaliseerd is.

Het pH-verschil is evenwel groot genoeg om een voldoende hoge concentratiegradiënt te geven voor de niet-geïoniseerde fractie van een organisch zuur tussen de tubuluscel en de tubulusurine. De totale concentratie van de substantie in de tubuluscel behoeft dan niet hoger te zijn dan de totale concentratie van de substantie in de tubulusurine om een concentratiegradiënt van cel naar urine voor de ongedissocieerde vorm te realiseren. Het blijft de vraag of de concentratiegradiënt onder die omstandigheden groot genoeg is om de grote capaciteit van het actieve transportsysteem te kunnen volgen.

c. De concentratie van de organische substantie in de tubulusurine

Wanneer het transport door compartiment V, dus de celmembraan aan de tubulaire zijde van de cel, wordt opgevat als een passief-transportproces, moet de

concentratie van de organische substantie in de tubulusurine van invloed kunnen zijn op deze fase van het transport. Bij hoge concentraties van de organische substantie in de tubulusurine zou het passieve transport vanuit de cel door de celmembraan aan de tubulaire zijde bemoeilijkt worden, hetgeen zich dan zou uiten in een stapeling van de organische substantie in de tubuluscel. Bij hoge plasmaconcentratie van PAH treedt een verhoging van de concentratie van deze stof in de tubuluscellen op, terwijl bij lage plasmaconcentratie, en derhalve lage concentratie in de tubulusurine, een tubulaire excretie van PAH wordt gezien zonder stapeling van deze substantie in de cel (Josephson c.s. 1953^a). Deetjen en Sonneberg (1963) hebben bij de rat puncties van de proximale tubuli *in situ* uitgevoerd. Eén van hun waarnemingen daarbij is dat bij een hoge concentratie van PAH in het perfusaat de passage van deze substantie vanuit de tubuluscel naar het tubuluslumen belemmerd wordt. Bij lage concentraties blijkt de hoeveelheid PAH, welke per tijdseenheid door de tubuli wordt uitgescheiden, afhankelijk van de tubulaire stroomsterkte, d.w.z. dat bij een grote flow meer PAH door de tubuluscellen aan het perfusaat wordt toegevoegd. Deze waarnemingen wijzen erop dat het transport door compartiment V afhankelijk kan zijn van de concentratie van de substantie in de tubulusurine. Uit een ander onderzoek is gebleken dat van PAH geen teruggdiffusie plaatsvindt, zelfs niet bij een pH van het perfusaat van 5,0 (Sonneberg c.s. 1965). Ook al pleiten de resultaten van verschillende onderzoeken voor een transport door diffusie van de organische substantie door compartiment V naar de tubulusurine, toch kan men hier de vraag stellen in hoeverre de celmembraan een diffusie toelaat. Bovendien dient men zich te realiseren dat een diffusie vanuit de tubuluscel naar de peritubulaire zijde in feite gemakkelijker zou moeten verlopen gezien de grotere pH-gradiënt tussen tubuluscel en peritubulaire vloeistof. Dit probleem kan men omzeilen door aan te nemen dat er een functioneel verschil bestaat tussen de membraan aan de peritubulaire zijde en die aan de tubulaire zijde van de cel. Van belang is het feit dat de tubuluscel een duidelijk polaire bouw vertoont waarmee een verschil in karakter van de twee membranen mogelijk kan zijn. Men zou hierbij dan moeten veronderstellen dat de celmembraan aan de peritubulaire zijde het karakter heeft van een lipoidmembraan met kleine, slechts voor anorganische ionen doorgankelijke poriën, welke een sterke belemmering vormt voor de passage van organische zuren en basen in geïoniseerde vorm. Anderzijds zou de celmembraan aan de zijde van het lumen dan een hoge permeabiliteit moeten bezitten voor organische substanties zowel in de geïoniseerde als in de niet-geïoniseerde vorm. Een dergelijke

situatie is vergelijkbaar met die gevonden bij de membraan van de glomerulus en de wand tussen de compartimenten I (plasma) en II (peritubulaire ruimte). Onder die omstandigheden zou voor de passage door de laatstgenoemde membraan de pH als zodanig van weinig invloed zijn. Dit blijkt ook uit de hiervoor aangehaalde experimentele gegevens. Ook het feit dat de stoffen in ongedissocieerde vorm relatief slecht lipoidoplosbaar zijn en toch actief kunnen worden uitgescheiden betekent dat bij lokalisatie van de actief-transportfase in compartiment III, compartiment V goed doorgankelijk moet zijn ook voor slecht lipoidoplosbare stoffen, tenzij men daar een carrier-gebonden passief transport aanneemt. Mogelijk zullen de verfijnde microscopische en vooral elektronen-microscopische technieken in de toekomst de hier geuite vermoedens kunnen bevestigen. Een uitbreiding van de experimenten van Sonneberg en Deetjen, waarbij het tubuluslumen geperfundeed wordt met een vloeistof die verschillende concentraties PAH bevat, in die zin dat de intracellulaire concentratie bepaald wordt als functie van de concentratie in het perfusaat, zou hier eveneens bruikbare argumenten kunnen opleveren. Immers, een hoge doorgankelijkheid van de membraan aan de zijde van het lumen betekent dat dan de concentraties van de stof in het perfusaat en binnen de cel vrijwel gelijkelijk zouden variëren.

d. Ionentransport

Uit experimenten van Vogel en medewerkers (1965^a, 1965^b, 1966^a) lijkt er een verband te bestaan tussen het natriumtransport door de cellen van de proximale tubuli en de uitscheiding van PAH. Tijdens perfusie-experimenten met geïsoleerde nieren hebben deze auteurs waargenomen dat bij een hoog aanbod van NaCl aan de tubulaire zijde van de tubuluscel de uitscheiding van PAH door de tubuluscellen toeneemt. Het effect is het duidelijkst wanneer NaCl aanwezig is zowel in het perfusaat in het tubuluslumen als aan de peritubulaire zijde. Minder duidelijk is het resultaat wanneer alleen aan de peritubulaire zijde NaCl wordt aangeboden. De invloed van NaCl wordt overigens alleen gevonden bij concentraties van PAH beneden het tubulaire maximum (Vogel c.s. 1965^b). Dit wijst erop dat NaCl de capaciteit van het tubulaire transport-mechanisme niet vergroot en geen verhoging geeft van het tubulaire maximum van PAH. Een andere waarneming van genoemde auteurs is, dat Na₂SO₄ minder invloed heeft op het PAH-transport dan NaCl. Het effect van NaCl wordt toegeschreven aan het Na⁺-ionentransport. Dit transport zou bij Na₂SO₄ geringer zijn ten gevolge van een geringer penetrerend vermogen van de SO₄⁻-ionen.

Het Na^+ -ionentransport is afhankelijk van het penetrerend vermogen van de anionen (Vogel 1966^b). Door voornoemde schrijver wordt verondersteld dat uiteindelijk het intracellulaire natriumgehalte van essentiële betekenis is. Dit zou namelijk zorgen voor een goede activiteit van het membraan-ATP-ase, dat op zich weer zou zorgen voor een splitsing van ATP en daarmee voor de energielevering voor het actief-transportproces. Hiermede is te verklaren waarom het effect het duidelijkst is bij aanbod van Na^+ -ionen aan beide zijden van de tubuluscellen. Het is ook begrijpelijk waarom bij toediening van NaCl alleen aan de peritubulaire zijde de invloed op het PAH-transport zo duidelijk afneemt. De richting van het Na^+ -ionentransport is immers van tubuluslumen naar peritubulaire ruimte.

Een opmerkelijk verschijnsel blijft dat alleen bij PAH-concentraties, waarbij het tubulaire maximum nog niet bereikt is, de excretie kan toenemen bij aanwezigheid van NaCl in het perfusaat. Dit wil in feite zeggen dat het tubulaire maximum bij lagere PAH-concentraties bereikt wordt. Op de capaciteit van het actief-transportstelsel wordt blijkbaar geen invloed uitgeoefend. Opgemerkt mag worden dat de experimenten zoals verricht door Vogel en medewerkers zijn uitgevoerd met oplossingen met een constante pH (7,4), zodat de gevonden verschijnselen niet verklaard kunnen worden door een verschil in pH van het perfusaat. Sonneberg en medewerkers (1965) vermelden dat in de proximale tubuli geen teruggdiffusie van PAH optreedt, ook niet bij een pH van het perfusaat van 5,0. Het effect van NaCl op de excretie van PAH zou ook verklaard kunnen worden door het feit dat door het hoge aanbod van Na^+ -ionen minder water teruggdiffundeert met als gevolg een lagere PAH-concentratie in het perfusaat en daarmee een hogere excretie van PAH door de tubuluscellen.

e. Wederzijdse verdringing van substanties van het actief-transportstelsel

Experimenteel onderzoek heeft aangetoond dat organische zuren, welke door een actief tubulair transport worden uitgescheiden, elkaars transport kunnen remmen. Dit geldt onder meer voor fenolrood, iodopyracet, PAH en orthojodohippuurzuur (Braun 1960, Josephson c.s. 1953^b, Weiner c.s. 1960 en Kutka c.s. 1963). De remming van de tubulaire excretie wordt opgevat als een competitieverschijnsel. Een algemeen beschadigende werking op de cellen als gevolg van de hoge dosering van een van de substanties is niet waarschijnlijk. Het proces is namelijk reversibel. De verschillende organische zuren die elkaar hinderen of verdringen bij de actieve uitscheiding, maken klaarblijkelijk gebruik van een

gemeenschappelijk carriersysteem. Wanneer twee door het betrokken systeem te verwerken organische zuren gelijktijdig worden aangeboden, dan zal bij aanbod in gelijke concentratie die substantie welke de grootste affiniteit tot het carriersysteem bezit, bij voorkeur getransporteerd worden. Hierbij wordt aangenomen dat er voor het afstoten van de getransporteerde verbinding geen grote verschillen bestaan tussen de verschillende verbindingen. Het zal duidelijk zijn dat onder de gegeven omstandigheden een stof met een hoge affiniteit toch verdrongen kan worden door een stof met een lage affiniteit, indien de laatste in aanzienlijk hogere concentratie dan de eerste wordt aangeboden. Die stof die wat betreft de affiniteit en de aangeboden concentratie in het voordeel is zal het transport van de tweede verbinding remmen. Strikt genomen remt uiteraard de tweede verbinding ook tot op zekere hoogte het transport van de eerste. De situatie is vergelijkbaar met die van de substraatcompetitie in de enzymologie. Naar alle waarschijnlijkheid maakt het zojuist besproken carriersysteem deel uit van het actief-transportstelsel. Op grond van hetgeen in de voorgaande secties is besproken, betekent dit dat dan ook het betrokken carriersysteem gelokaliseerd zou zijn in compartiment III. De vraag rijst of experimenten op het gebied van de onderlinge verdringing van stoffen ten aanzien van dit carriersysteem voor deze lokalisatie verdere argumenten kunnen opleveren. Wanneer het tubuluslumen wordt doorstroomd met iodopyracet en deze substantie in het bloed niet aanwezig is, wordt de PAH-uitscheiding via de tubuluscellen niet geremd. Het competitieverschijnsel wordt alleen gezien wanneer iodopyracet in de bloedbaan is ingespoten (Deetjen 1964).

Bij de vergelijking van de affiniteit van verschillende stoffen voor het transportstelsel wordt vaak uitgegaan van de veronderstelling dat een trage uitscheiding van de stof gepaard zou gaan met een hoge affiniteit en wel omdat blijkt dat traag uitgescheiden stoffen dikwijls effectiever zijn in de remming van het transport van stoffen dan snel uitgescheiden stoffen. Probenecid geldt hier als voorbeeld. Zo eenvoudig is de zaak echter niet. Strikt genomen ligt het meer voor de hand om voor stoffen met een hoge uitscheidingssnelheid een hoge affiniteit aan te nemen. Het feit dat traag uitgescheiden stoffen klaarblijkelijk effectieve blokkeerders zijn kan zeer wel samenhangen met het feit dat de trage uitscheiding een gevolg is van passieve teruggediffusie van de betrokken stof waardoor deze steeds weer opnieuw in het actief-transportstelsel kan ingrijpen. Dergelijke stoffen zullen dan effectieve blokkeerders zijn wanneer men de duur van de werking mede in aanmerking neemt. Anderzijds zou in het meer acute experiment zeer wel kunnen blijken dat de langzaam uitgescheiden stof toch de min-

dere is als het gaat om de competitie om het transportsysteem, zodat de snel uitgescheiden stof dan in hoofdzaak beslag legt op het transportsysteem. Bij een competitie bestaat er een zekere dosis-afhankelijkheid in die zin dat er een lineair verband is tussen de concentratieverhouding van de substanties en de mate van remming (Braun 1960). Een dergelijk verband wordt bij probenecid bij *in vitro* experimenten met niercoupes van de cavia niet gevonden. De hoeveelheid probenecid die nodig is om de stapeling van PAH of fenolrood te remmen neemt hier exponentieel af met de concentratie van deze substanties (Braun 1960). In feite blijkt dat deze benodigde hoeveelheid probenecid kleiner is dan die welke op grond van een eenvoudige competitie te verwachten is. Het is echter bekend dat probenecid zelf sterk in de niercellen wordt gestapeld, waarschijnlijk als gevolg van de hoge lipoidoplosbaarheid van deze verbinding (Deetjen 1964). Dit zou dan de grotere effectiviteit van probenecid onder de gegeven experimentele omstandigheden kunnen verklaren.

4. *Mogelijke lokalisatie van het actieve transport*

Op grond van de in de voorgaande secties gegeven theoretische beschouwing en de verschillende experimentele waarnemingen lijkt het verantwoord aan te nemen dat de actieve fase van het tubulaire transportsysteem voor organische zuren in compartiment III gelokaliseerd is. Een en ander houdt in dat het transport van de organische verbindingen vanuit de tubuluscel naar het tubuluslumen plaatsvindt op basis van een concentratiegradiënt van de stof. Dit impliceert dat de diffusie vlot moet kunnen verlopen, hetgeen betekent dat, in tegenstelling tot de membraan aan de peritubulaire zijde van de tubuluscel, de membraan aan de zijde van het lumen een hoge mate van permeabiliteit voor het substraat moet bezitten, waarschijnlijk zowel voor de geïoniseerde als voor de niet-geïoniseerde vorm.

5. *Moleculaire specificiteit van organische zuren*

De affiniteit van een organisch zuur voor het actief-transportsysteem moet tot op zekere hoogte afhankelijk zijn van de chemische eigenschappen van de substantie (Copenhaver c.s. 1958). De organische zuren welke via een actief-transportsysteem worden uitgescheiden, bezitten een hydrofiële groep en een deel met een lipofiel karakter (Höber 1954). Stoffen met een moleculaire structuur, waarin hydrofobe apolaire groepen en hydrofiële polaire groepen voorkomen, zouden gunstige substanties zijn voor een tubulaire excretie (Wilbrandt 1954).

Volgens Taggart (1956) lijkt het aangrijpingspunt voor een interactie tussen stoffen als PAH, iodopyracet, fenolrood, penicilline en de carrier te liggen bij de negatief geladen groep van de organische zuren. Deze groepen zijn COO^- en SO_3^- . Het bewijs hiervoor vindt Taggart (1956) bij substituering van de carboxylgroep van PAH. Bij deze substituering ontstaat een substantie (p-aminohippuurhydroxamate) waarvan de clearance beneden de glomerulaire filtratie ligt. Opgemerkt moet worden dat in deze stof de zuurgroep geblokkeerd is. Substituering van andere potentieel reactieve groepen van PAH heeft veel minder invloed op de mate van uitscheiding. Zo blijkt invoering van een methylgroep in de amideketen (N-methyl-p-aminohippuurzuur) of acetylering van de para-aminogroep (p-acetylaminohippuurzuur) van geen invloed te zijn op de tubulaire excretie (Taggart 1956). Ook deze gegevens wijzen erop dat de zuurgroep en daarmee het vermogen tot ionisatie essentieel is voor de opname van de verbindingen door het transportsysteem. Uiteraard spelen ook de verdere chemische eigenschappen van het molecuul een rol; immers niet alle organische zuren worden door het betrokken systeem actief getransporteerd. Als belangrijkste bijkomende factoren kunnen genoemd worden de aanwezigheid van een meer lipofiele of hydrofobe groep waardoor het molecuul een polair karakter krijgt. Naast de ionenbinding zou de hydrofobe binding door de meer lipofiele groep dan tot de reversibele koppeling aan de carrier bijdragen (Deetjen 1964). Voor wat betreft de infrastructuur van de getransporteerde moleculen kan opgemerkt worden dat het voorkomen van een ketogroep gescheiden van de zuurgroep, als regel carboxylgroep, door een 2-tal atomen, zoals bij PAH, Hippuran® en iodopyracet, van betekenis kan zijn (Despopoulos c.s. 1958). Zij zijn echter niet essentieel, zoals mag blijken uit het feit dat ook een stof als fenolrood door het betrokken systeem getransporteerd wordt.

6. *Tubulair maximum*

Bij het bereiken van een bepaalde plasmaconcentratie neemt de tubulaire excretie van een substantie niet verder toe. Voor iedere organische substantie, welke door een actief tubulair transport wordt uitgescheiden, geldt dat de uitscheiding ervan aan een maximum is gebonden. Men noemt dit het tubulaire maximum. Dit maximum is afhankelijk van het aantal actieve nefronen en de transportcapaciteit van de tubuluscellen. Deze laatste wordt bepaald door de beschikbare hoeveelheid carrier of de beschikbare energie. Het tubulaire maximum, veelal aangegeven als T_m , is dus een stofconstante voor een bepaald

biologisch object en representeert een maximale uitscheiding van de betrokken stof uitgedrukt in mg per min. Het is duidelijk dat bij bereiken van het tubulaire maximum in de uitscheiding de clearance van de betrokken stof groter zal zijn dan die van een stof die alleen door ultrafiltratie wordt uitgescheiden, zoals bv. inuline. Bij verder stijgen van de plasmaconcentratie zal de uitscheiding van de betrokken stof weliswaar verder stijgen, maar de clearance afnemen, zodat althans theoretisch, uiteindelijk de hoeveelheid actief uitgescheiden substantie verwaarloosbaar wordt in vergelijking tot de hoeveelheid uitgescheiden door ultrafiltratie, waardoor dan de clearance voor de betrokken stof nadert tot die van inuline. Het is duidelijk dat de waarde voor T_m en de plasmaconcentratie waarbij die bereikt wordt zal veranderen bij verandering van de fysiologische conditie van het testobject. Tevens is het duidelijk dat de waarde voor T_m en de plasmaconcentratie waarbij het maximum bereikt wordt variëren voor verschillende stoffen en wel op grond van het feit dat de snelheid van associatie en dissociatie van het substraat-carriercomplex van stof tot stof zal variëren (Wilbrandt 1954). De waarde van het tubulaire maximum kan een indicatie geven voor de effectiviteit van het actieve transport. Enerzijds kan men door vergelijking van verschillende stoffen aan een en hetzelfde biologische object informatie krijgen over de capaciteit van het transportsysteem ten aanzien van verschillende stoffen. Anderzijds kan men door vergelijking van het tubulaire maximum voor een stof bij verschillende biologische objecten informatie krijgen over de effectiviteit van het transportsysteem bij deze objecten. Het is duidelijk dat ter bepaling van de waarde van het tubulaire maximum de clearance van de betrokken stof bekend moet zijn, terwijl bovendien ook de clearance van inuline of creatinine bekend moet zijn teneinde een correctie aan te brengen voor de hoeveelheid via ultrafiltratie uitgescheiden stof. Door bij verschillende plasmaconcentraties per tijdseenheid het verschil tussen de totale hoeveelheid uitgescheiden stof, en de hoeveelheid, uitgescheiden op basis van ultrafiltratie, berekend uit de inuline- of creatinine-clearance en de vrije plasmaconcentratie van de stof te berekenen, kan de tubulaire uitscheiding en daarmee het tubulaire maximum gevonden worden. De tubulaire uitscheiding van een stof is gelijk aan het verschil tussen de totale uitscheiding en de hoeveelheid uitgescheiden door ultrafiltratie, althans indien de stof niet op nog andere wijze aan de urine wordt toegevoegd of onttrokken. Zoals bekend kan dit laatste zeer wel het geval zijn vooral voor de in ongedissocieerde vorm goed lipoid-oplosbare stoffen en bij een pH van de urine waarbij een voldoende grote fractie in de ongedissocieerde vorm aanwezig is. De beschouwingen betreffende

het tubulaire maximum en de plasmaconcentratie waarbij het tubulaire maximum optreedt, zoals hierna gegeven, gelden dan ook slechts indien dergelijke complicaties zich niet voordoen. Zoals gesteld neemt de tubulaire uitscheiding bij het stijgen van de plasmaconcentratie toe totdat als gevolg van een verzadiging van het transportsysteem geen verdere stijging meer plaatsvindt. Dit betekent dat zich hierbij een tweetal kritische waarden voordoet nl. de hoogte van het tubulaire maximum en de plasmaconcentratie, waarbij dit maximum bereikt wordt. Beide grootheden kunnen onafhankelijk van stof tot stof verschillen, terwijl zij tevens, en wel in het bijzonder het tubulaire maximum, afhankelijk zullen zijn van de conditie van het betrokken biologische systeem, b.v. de toestand van de nier. Bij de gezonde mens is voor een aantal stoffen het tubulaire maximum vergeleken. Daarbij werd gevonden voor fenolrood 36 mg/min, voor PAH 77 mg/min en voor iodopyracet 90 mg/min (Smith 1951). De plasmaconcentraties waarbij deze maxima bereikt werden zijn niet gegeven. De vraag is nu, welke de betekenis is van verschillen in de waarde van T_m en verschillen in de bijbehorende plasmaconcentratie voor verschillende stoffen. Een interpretatie van deze waarde kan slechts op moleculair niveau gegeven worden. Het gaat immers om een interactie tussen moleculen van de substantie en het transportsysteem; aan de opnamekant van het transportsysteem speelt de affiniteit van de betrokken stoffen tot het transportsysteem een rol. Het vermogen van het transportsysteem om de stof door te geven, de maximale snelheid waarmee de stof door het systeem wordt verwerkt, hangt af van de snelheid waarmee de stof aan de zijde van afgifte wordt vrijgegeven. Daarbij speelt de snelheid van activering van het complex, dan wel de snelheid van dissociatie van het complex een rol. Analooq aan datgene wat men bij de omzetting van een substraat door enzymen waarneemt kan men stellen dat de plasmaconcentratie waarbij het transportsysteem verzadigd raakt, dus de plasmaconcentratie waarbij T_m bereikt wordt, een aanwijzing geeft omtrent de affiniteit van de betrokken stof, terwijl de waarde van het tubulaire maximum dan weer afhankelijk zou zijn van de snelheid van dissociatie van het substraat-carriercomplex. Bij een dergelijke benadering dient men uit de aard der zaak de hoeveelheden en concentraties niet in mg maar in molaireenheden uit te drukken. Daarbij blijkt bv. voor de hierboven gegeven waarden voor T_m dat bij uitdrukken ervan in mmol per minuut de volgorde der verschillende stoffen een geheel andere wordt, nl. fenolrood 0,01 mmol/min, iodopyracet 0,22 mmol/min en PAH 0,40 mmol/min.

Voor de betekenis van de plasmaconcentratie dient men ook hier uiteraard te

corrigeren voor binding van de stof aan plasma-eiwitten. Uiteindelijk staat in de peritubulaire ruimte de concentratie van de te transporteren stof gelijk aan de concentratie van de ongebonden stof in het plasma, terwijl van deze concentratie naar alle waarschijnlijkheid slechts de geïoniseerde fractie direct door het transportsysteem kan worden opgenomen. Dit betekent dat rekening gehouden moet worden met de pK_a -waarde van de betrokken stof en de pH ter plaatse. Een en ander houdt in dat voor een inzicht in het verband tussen structuur en chemische eigenschappen van bv. de röntgencontrastmiddelen voor de intraveneuze pyelografie de waarde van het tubulaire maximum en de plasmaconcentratie waarbij deze bereikt wordt, de verschillende correcties in aanmerking genomen, van grote betekenis is.

Waar het betreft de interpretatie van het tubulaire maximum in de zin van de efficiëntie van het transportsysteem en de plasmaconcentratie waarbij dit bereikt wordt als een indicator voor de affiniteit van de getransporteerde stof voor het systeem, rijst de vraag in welk opzicht de energievoorziening het meest essentieel is. Informatie hierover kan verkregen worden door bepalen van de verandering in beide grootheden onder invloed van remmers van het metabolisme.

Op grond van de schema's gegeven in figuur 2 mag verwacht worden dat in het bijzonder het tubulaire maximum van energielevering afhankelijk is.

De plasmadoorstroming van de nier kan bepaald worden door middel van de clearance van een stof, welke bij passage van het plasma door de nieren volledig wordt uitgescheiden en waarbij dan geen terugdiffusie of terugresorptie is opgetreden. In het plasma in de vena renalis mag de betrokken substantie dus niet meer aanwezig zijn. In de praktijk zal dit nooit volledig het geval zijn, omdat niet al het bloed, dat via de arteria renalis de nier bereikt, langs de uitscheidings-systemen wordt gevoerd. Een klein deel zal bijvoorbeeld benut worden voor de bloedvoorziening van het nierkapsel. Wil men met behulp van de clearance van een substantie de plasmadoorstroming meten, dan zal men in ieder geval de clearance moeten bepalen bij een plasmaconcentratie van een substantie beneden die waarbij normaal T_m bereikt wordt. Men moet dus van de betrokken stof deze plasmaconcentratie weten, welke benaderd kan worden met toepassing van de formule:

$$[S]_p = \frac{S_F + S_T}{RPF}$$

Hierin is:

$[S]_P$: de totale concentratie van de substantie in het plasma (mg/ml)

S_F : de gefiltreerde hoeveelheid substantie (mg/min)

S_T : de hoeveelheid substantie tubulair uitgescheiden (mg/min)

RPF : de plasmadoorstroming van de nier (ml/min)

In het algemeen komt het hier op neer dat de plasmadoorstroming van de nieren bij lage plasmaconcentraties van een substantie bepaald kan worden. Door gebruik te maken van radioactief gemerkte stoffen is dit gemakkelijk te verwezenlijken.

IV. PASSIEF TUBULAIR TRANSPORT

In tegenstelling tot het actieve transport is voor een passief transport geen energielevering vereist, terwijl als regel de stof van een plaats met hoge concentratie naar een plaats met lage concentratie getransporteerd wordt. Hier zal in hoofdzaak alleen aandacht worden besteed aan een eenvoudige vrije diffusie van een substantie door een biologisch membraan, waarbij de mate van transport in een direct verband staat tot de concentratiegradiënt van een transportabele stof aan weerskanten van de membraan, omdat in ons geval deze vorm van passief transport de belangrijkste rol speelt. Met betrekking tot het passieve tubulaire transport van een organische substantie kunnen verschillende factoren van betekenis zijn:

1. de permeabiliteitskarakteristieken van het tubulusmembraan,
2. de grootte van het molecuul van de organische substantie,
3. de lipoïdoplosbaarheid van de organische substantie,
4. de ionisatieconstante van de organische substantie,
5. de pH aan weerskanten van de membraan,
6. de mate van terugdiffusie van water.

1. *Tubulusmembraan*

Een transport door een biologisch membraan kan plaatsvinden via poriën voor kleine geïoniseerde deeltjes, anderzijds door oplossen in de lipide fase van het membraanmateriaal (van Os 1960, Schanker 1962). Voor het passieve tubulaire transport van organische substanties blijkt met name de tweede mogelijkheid van betekenis. Het tubulusepitheel wordt in het algemeen beschouwd als een lipoïdmembraan dat een snelle passage mogelijk maakt van lipoïdoplosbare

moleculen (Brodie c.s. 1957, Milne c.s. 1958, Orloff c.s. 1961, Sperber 1959 en Taggart 1958). In het nefron treedt vooral in het distale gedeelte een teruggdiffusie op door passief transport van organische substanties, o.a. van organische zuren. In de distale tubuli is de concentratie van de urine het hoogst. Na terugresorptie van zouten en teruggdiffusie van water in de proximale tubuli vindt een verdere teruggdiffusie van water in het distale deel van het nefron plaats. Hierdoor zal voor organische substanties, welke niet of nauwelijks teruggdiffunderen, een hoge concentratiegradiënt ontstaan tussen de urine en de vloeistof in de peritubulaire ruimte.

2. Grootte van het organische molecuul

Aangezien de diffusie van de meeste organische substanties in het distale gedeelte van het nefron, met name in de distale tubuli, tot stand komt door oplossen van de organische verbinding, ongedissocieerd, in de lipoïdmembraan en niet door passage via poriën, zal de grootte van het molecuul van het farmacon van weinig betekenis behoeven te zijn.

3. Lipoïdoplosbaarheid

De lipoïdoplosbaarheid zal daarentegen wel van belang zijn voor de vrije diffusie. De vraag of organische zuren in ongedissocieerde vorm in het algemeen lipoïdoplosbaar zijn is afhankelijk van de moleculaire bouw (Milne c.s. 1958). Aanwezigheid van polaire groepen, zoals -OH en -COOH, maakt een substantie meer wateroplosbaar, terwijl de aanwezigheid van niet-polaire groepen, zoals -CH₃ en -CO—N de stof meer lipoïdoplosbaar maakt. Overton (1902) toonde aan dat substanties met een lage olie/water verdelingscoëfficiënt moeilijker een membraan kunnen passeren dan stoffen met een hoge verdelingscoëfficiënt. Zo wordt voor salicylzuur bij een verdeling over chloroform en water een verdelingscoëfficiënt (K_p) gevonden van 0,02 en wel bij een pH in de waterige fase van 7,4 (Brodie c.s. 1957). Weiner en Mudge (1964) geven als verdelingscoëfficiënt van salicylzuur voor het systeem chloroform/water een waarde op van 2,9 en delen hierbij niet mede dat deze bepaald is na toevoeging van zoutzuur aan de waterfase. In aanmerking genomen de terugdringing in de dissociatie van het salicylzuur onder deze omstandigheden is deze hogere waarde begrijpelijk. Anderzijds blijkt hieruit dat het opgeven van een verdelingscoëfficiënt slechts zin heeft indien ook de pH, waarbij de bepaling plaatsvond, wordt vermeld. De door Weiner en Mudge (1964) opgegeven K_p-waarden voor ver-

schillende organische verbindingen zijn dan ook niet vergelijkbaar door het ontbreken van een opgave van de pH in de waterige fase, temeer daar de opgegeven verdelingscoëfficiënten niet van één onderzoek afkomstig zijn, maar zijn overgenomen van meerdere auteurs, die elk een van de stoffen hebben onderzocht.

4. *Ionisatieconstante van de organische substantie*

Voor organische anionen mag in het algemeen gesteld worden dat slechts de neutrale vorm ervan lipoidoplosbaar is, zodat de ongedissocieerde fractie van de substantie voor diffusie door een lipoidmembraan in aanmerking komt. De mogelijkheid tot een passief tubulair transport is derhalve afhankelijk van de ionisatiegraad van de organische stof, hetgeen weer samenhangt met de aanwezigheid van sterk polaire groepen. Invoeren van sterk zure of basische groepen geeft stoffen met een hoge dissociatiegraad (Ariëns 1963). Hierdoor neemt de mogelijkheid tot vrije diffusie af. Dit geldt niet alleen voor diffusie door de tubulusmembraan, doch ook door alle andere lipoidmembranen in het organisme, met als gevolg dat de verdeling van de stof in hoge mate tot het extracellulaire milieu beperkt kan blijven, waardoor de toxiciteit afneemt (Ariëns 1963). Een stof die weinig geïoniseerd is zal bij een gegeven pH-verschil de tubulusmembraan sneller passeren dan een stof die voor een groot deel in ion-vorm aanwezig is. Het zullen bij voorkeur de zwakke zuren zijn waarvan de passieve terugdiffusie en zodoende de uitscheiding door de nieren verandert bij verschuiving van de pH van de urine.

5. *pH-gradiënt*

In enge relatie tot de dissociatie van een organisch zuur staat de pH van het milieu. De concentratieverhouding van de geïoniseerde en de neutrale vorm van de stof is afhankelijk van de pH van het milieu. Deze relatie voor een organisch zuur wordt in de vergelijking van Henderson-Hasselbalch als volgt weergegeven:

$$\text{pH} - \text{pK}_a = \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{AH}]}$$

In deze vergelijking is:

pK_a de negatieve logaritme van de ionisatieconstante van het zuur,

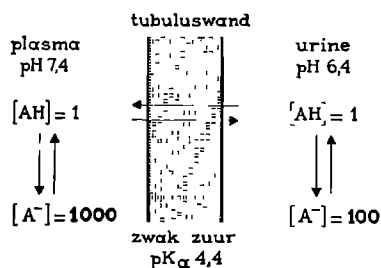
$[\text{A}^-]$ de concentratie van het zuur in de geïoniseerde vorm,

$[\text{AH}]$ de concentratie van het zuur in de niet-geïoniseerde vorm.

Voor berekening van de concentratieverhouding voor een organisch zuur kan de vergelijking beter als volgt worden weergegeven (Milne c.s. 1958):

$$[A^-] = [AH]_{10^{(pH - pK_a)}}$$

Wanneer aan beide zijden van de membraan de pH van het milieu verschillend is en de membraan alleen permeabel is voor de niet-geïoniseerde fractie van een substantie, zal de verdeling van een gedeeltelijk geïoniseerde stof dusdanig zijn dat bij evenwicht de concentratie van de neutrale vorm gelijk is, maar de totale concentratie verschillend (figuur 4). De totale concentratie aan beide kanten van de membraan is derhalve een functie van de H^+ -ionengradiënt tussen de twee vloeistoffen en de ionisatieconstante van de stof (Schanker 1962). Voor



FIGUUR 4: Verdelingsevenwicht van een zwak zuur over urine en plasma in afhankelijkheid van pH en pK_a -waarde.

FIGURE 4: Distribution at equilibrium of a weak acid in urine and plasma in dependence of pH and pK_a value.

de theoretische concentratieverhouding bij een evenwicht tussen twee vloeistoffen met een verschillende pH en gescheiden door een lipoidmembraan is door Jacobs (1940) een vergelijking opgesteld. Deze vergelijking toegepast op de concentratieverhouding van een zuur in urine ($[S]_u$) en plasma ($[S]_p$), luidt dan:

$$\frac{[S]_u}{[S]_p} = \frac{[AH]_u + [A^-]_u}{[AH]_p + [A^-]_p}$$

of:

$$\frac{[S]_u}{[S]_p} = \frac{[AH]_u + [AH]_u 10^{(pH_u - pK_a)}}{[AH]_p + [AH]_p 10^{(pH_p - pK_a)}}$$

Bij een evenwichtstoestand zal $[AH]_u$ gelijk zijn aan $[AH]_p$, zodat de vergelijking wordt:

$$\frac{[S]_u}{[S]_p} = \frac{1 + 10^{(pH_u - pK_a)}}{1 + 10^{(pH_p - pK_a)}}$$

Dit is slechts een theoretische vergelijking. In de praktijk blijkt dan ook dat de concentratieverhouding doorgaans lager is. Als verklaring hiervoor kunnen drie argumenten worden gevonden (Milne c.s. 1958). Op de eerste plaats wordt er van uitgegaan dat er een volledig evenwicht wordt bereikt. De meeste biologische processen moeten zich in een kort tijdsbestek afspelen en vaak zal dan ook in een diffusieproces geen compleet evenwicht kunnen worden bereikt. Vervolgens is deze vergelijking gebaseerd op de veronderstelling dat de tubulusmembraan volledig impermeabel is voor de geïoniseerde vorm van de substantie. Bewijsmateriaal hiervoor ontbreekt echter. Tenslotte wordt in de praktijk in het gunstigste geval de concentratieverhouding gemeten tussen urine en arterieel plasma. Waar het echter op aankomt is de concentratieverhouding tussen urine en capillair plasma of nog beter peritubulaire vloeistof.

Van belang is de concentratieverhouding van de ongedissocieerde stof in relatie tot de vetoplosbaarheid. Bij relatief lage concentraties van de ongedissocieerde vorm van een organische substantie kan ook bij een geringe pH-verschuiving, welke deze fractie verdubbelt, een vlotte terugdiffusie optreden. pH-verschuivingen ver buiten het gebied van de pK_a van de stof kunnen toch een invloed uitoefenen. Van deze invloed van de pH van de urine wordt gebruik gemaakt voor het uitdrijven van organische zuren door alkalisch maken van de urine, terwijl omgekeerd bij alkalisch maken van de urine organische basen vertraagd worden uitgescheiden. Dit kan ook consequenties hebben voor het gebruik van geneesmiddelen en de werkwijze ervan.

Ook voor de bepaling van de plasmadoorstroming van de nier met behulp van organische zuren, welke mede door een actieve tubulaire excretie worden uitgescheiden, zoals PAH, kan de pH van de urine van betekenis zijn. Het is namelijk gebleken dat bij honden bij een lage pH van de urine de clearance van PAH tot de helft kan dalen en van fenolrood zelfs tot een kwart (Braun c.s. 1963).

6. *Terugdiffusie van water*

In het voorgaande is reeds naar voren gekomen dat de passieve terugdiffusie zich in een kort tijdsbestek moet afspelen, hetgeen sterk afhankelijk is van de

snelheid van de urinestroom, welke op zich weer bepaald wordt door de mate van waterterugdiffusie. Zodoende zal een verminderde terugdiffusie van water, door welke oorzaak dan ook, de mogelijkheid tot evenwichtsinstelling, bij terugdiffusie van de ongedissocieerde vorm van een organische substantie, verlagen en derhalve de hoeveelheid ongedissocieerde stof, welke per tijdseenheid terugdiffundeert, verminderen. Daarnaast bepaalt de mate van terugdiffusie van water het concentratieverschil van een organische substantie per volume-eenheid van urine en plasma. Bij een hoge urineproduktie kan de passieve terugdiffusie van een organische substantie onopgemerkt blijven.

V. DE VORMING VAN CONJUGATIEPRODUKTEN DOOR DE NIER

Verschillende organische zuren kunnen door het nierweefsel gekoppeld worden aan glycine, glucuronzuur, sulfaat e.a. Ditzelfde geldt voor fenolen en andere verbindingen. De conjugatieprodukten, die op zich ook weer allemaal verbindingen met een ioniseerbare zuurgroep zijn, kunnen actief worden uitgescheiden. Als bewijs hiervoor kan dienen de ervaring met het hippuurzuur, een koppelingsprodukt van glycine en benzoëzuur. De conjugatieprodukten, bv. salicylzuurconjugaten, verschijnen in het algemeen slechts in lage concentraties in het plasma (Gutman c.s. 1955). Algemeen wordt aangenomen dat de conjugatie voor een belangrijk deel in de lever plaatsvindt. Het feit dat de concentratie van salicylzuurconjugaten in het plasma laag is, kan verklaard worden door de snelle excretie van deze substanties, waartoe ook wordt bijgedragen door het actieve tubulaire transport. Toedienen van natriumbenzoaat en glycine aan honden leidt tot het voorkomen van hippuurzuur in het plasma. Het feit dat na afbinden van de niervaten en toedienen van natriumbenzoaat en glycine geen hippuurzuur in het plasma voorkomt wijst erop dat de koppeling in dit geval uitsluitend in het nierweefsel plaatsvindt (Smith 1951). Het is een open vraag in hoeverre na conjugatie in de niercellen het conjugatieprodukt goeddeels, zonder tussentijds in het plasma te zijn afgegeven, door het actieve uitscheidingsstelsel wordt opgenomen dan wel of als regel het plasma als fase is tussengeschied.

De vraag rijst welke de betekenis kan zijn van de omzetting tot conjugaten van op zich reeds zure verbindingen, zoals salicylzuur, dat kan worden uitgescheiden door het actief-transportstelsel, tot andere zuren. Als regel, - en dit geldt zeker voor de glucuronzuurconjugatie en voor de koppeling van fenolen tot sulfaten - neemt de wateroplosbaarheid van de betrokken verbindingen toe

waardoor de kans op terugdiffusie vermindert. Anderzijds vormen wellicht de conjugaten betere substraten voor de actief-transportmechanismen dan de oorspronkelijke zuren. Doorslaggevende experimentele gegevens in dit opzicht werden door ons in de literatuur niet gevonden. Interessant in dit verband zijn de waarnemingen van Mac Pherson (1955), waarbij bleek dat door verandering van de pH in de urine de verhouding van geconjugeerde en ongeconjugeerde produkten in de urine zich wijzigt en wel in die zin, dat bij verhogen van de pH de hoeveelheid conjugatieprodukt afneemt en omgekeerd verlaging van de pH leidt tot een toename van de hoeveelheid conjugaat. Dit kan het vermoeden doen rijzen dat ook het biochemische koppelingsmechanisme pH-afhankelijk zou zijn. Waarschijnlijk echter is de toename van de hoeveelheid conjugaat bij verlaging van de pH een gevolg van het feit dat daarbij meer salicylzuur in de ongedissocieerde vorm voorhanden is, dus meer salicylzuur betrokken is bij de passieve terugdiffusie. Het teruggediffundeerde salicylzuur staat hierbij dan weer bloot aan de conjugatiereactie. Er vindt als het ware een zich steeds herhalende recirculatie plaats en wel van het salicylzuur in de ongeconjugeerde vorm. Na conjugatie immers is dankzij de toegenomen hydrofiliteit de neiging tot passieve terugdiffusie sterk verminderd.

VI. LITERATUUROVERZICHT BETREFFENDE DE UITSCHIEDING VAN RÖNTGENCONTRASTMIDDELEN DOOR DE NIER

Bij het raadplegen van de literatuur, welke betrekking heeft op de uitscheiding van röntgencontrastmiddelen door de nier, hebben wij ons beperkt tot die substanties welke voor de intraveneuze pyelografie gebruikt worden. Deze contrastmiddelen zijn iodopyracet, acetrizoate, diatrizoate, metrizoate, iothalamate en iodamide. Van genoemde contrastmiddelen hebben we de resultaten vermeld uit de literatuur zoals deze verkregen zijn uit clearancebepalingen en 'stop flow' proeven.

1. *Iodopyracet*

Van dit contrastmiddel zijn de meeste gegevens in de literatuur te vinden. Onder de naam Diodrast® heeft het een algemene bekendheid verworven bij het onderzoek van de nierfunctie en de plasmadoorstroming door de nieren. Zowel bij de mens als bij de hond is vastgesteld dat iodopyracet naast ultrafiltratie door de glomeruli ook door een actief tubulair transport wordt uitge-

scheiden. De clearance van deze stof is duidelijk hoger dan van inuline of creatinine (Barclay c.s. 1949, Black c.s. 1941, Elsom c.s. 1936, 1937, Josephson 1947, 1952, 1953^b, Kimbel 1962, Knoefel 1961^b, Landis c.s. 1936, Neuhaus c.s. 1950, Smith 1951, White 1940, Willenbrink c.s. 1959, Winter 1963 en Woodruff c.s. 1960).

De tubulaire clearance van iodopyracet is nog nader onderzocht door gebruik te maken van het competitieverschijndel. Zo is vastgesteld dat PAH de uitscheiding van iodopyracet remt (Edling c.s. 1957, Josephson c.s. 1953^a, De-Maria c.s. 1960 en Willenbrink c.s. 1959). Nog duidelijker is het omgekeerde, namelijk de remming van de PAH-excretie na een voorafgegeven hoge dosis iodopyracet (Forster c.s. 1962, Josephson c.s. 1953^b en Schlungbaum 1962). Dit suggereert een grote affiniteit van dit contrastmiddel voor het tubulaire transportmechanisme. Overeenkomstig de verwachting remt iodopyracet niet alleen de PAH-excretie, maar ook de tubulaire uitscheiding van fenolrood (Engström c.s. 1953). Elwood en medewerkers (1965) vergeleken bij mensen de clearance van PAH en iodopyracet. Er werd een nagenoeg gelijke clearance voor deze twee substanties gevonden. Een competitieve remming werd niet gevonden. Deze waarneming lijkt volkomen begrijpelijk omdat het onderzoek bij zeer lage plasmaconcentraties van beide stoffen heeft plaatsgevonden, namelijk beneden een concentratie van 0,02 mg/ml. Onder deze omstandigheid is het actief-transportmechanisme verre van verzadigd.

Door Woodruff en Malvin (1960) is met behulp van 'stop flow' experimenten bij honden het actieve tubulaire transport duidelijk aangetoond.

Over het algemeen is weinig aandacht geschonken aan de mogelijkheid van een tubulaire teruggediffusie voor deze stof in het distale deel van het nefron. Iodopyracet heeft een pK_a van 2,7 (Smith c.s. 1945). Bij een pH van de urine, welke gewoonlijk niet lager zal zijn dan 6,0, zal de geïoniseerde fractie de neutrale fractie verre overtreffen. Waar alleen de neutrale vorm voor teruggediffusie in aanmerking komt, zal dit transport, bij een slechte lipoidoplosbaarheid van de stof, nauwelijks waarneembaar zijn, temeer daar het onder normale omstandigheden niet tot een evenwichtsinstelling zal komen. Burdon en medewerkers (1950) hebben nagegaan of alkalisering van de urine met $NaHCO_3$ beter beoordeelbare intraveneuze pyelogrammen zou opleveren. De waarneming dat onder deze omstandigheid de verkregen afbeeldingen van de bekkenkelksystemen beter zijn, verklaren zij als zijnde het gevolg van een grotere waterteruggediffusie door de actie van de Na^+ -ionen. In de proximale tubuli worden Na^+ -ionen teruggeresorbeerd, hetgeen gepaard gaat met een teruggediffusie

van water. Volgens genoemde auteurs zou het hogere aanbod van Na^+ -ionen bij NaHCO_3 -toediening tot gevolg hebben dat een t.a.v. iodopyracet geconcentreerdere urine ontstaat. Bij toediening echter van NaHCO_3 zal slechts tijdelijk ten gevolge van de hypertonie een verhoogde waterterugdiffusie optreden, die evenwel spoedig gevolgd wordt door een verhoogde diurese als gevolg van een verhoogde natriumuitscheiding. Dat de hoge pH van de urine als zodanig verantwoordelijk zou kunnen zijn voor de contrastrijkere afbeeldingen van de bekkenkelksystemen door de hogere uitscheiding van iodopyracet als gevolg van een verminderde terugdiffusie, wordt door genoemde auteurs niet overwogen. Met deze laatste mogelijkheid wordt wel rekening gehouden door Ewell en Bruskewitz (1950), hoewel ook zij toch de nadruk leggen op de verhoogde terugdiffusie van water. Anderzijds zou men als het om de belasting met Na^+ -ionen gaat van een fysiologische zoutoplossing een zelfde effect mogen verwachten als van NaHCO_3 . Dit is echter niet onderzocht.

Daar experimenteel is aangetoond dat de clearance van iodopyracet niet beïnvloed wordt door de snelheid van diurese (Landis c.s. 1936), lijkt een terugdiffusie van dit contrastmiddel niet erg waarschijnlijk. Iodopyracet is in meerdere zoutvormen toegediend. Clearancebepalingen van het diaethanolaminezout en diaethylaminezout hebben uitgewezen dat er geen verschil in uitscheiding bestaat (Black c.s. 1941). Als natriumzout wordt dit röntgencontrastmiddel vlot door de nieren uitgescheiden. Na ongeveer 1 uur wordt reeds 71,9% van de toegediende dosis in de urine teruggevonden (Binz c.s. 1932). Van het methylglucaminezout zijn geen gegevens bekend, doch op grond van het voorafgaande mag verwacht worden dat dezelfde clearancewaarden zullen worden gevonden.

Bij een lage plasmaconcentratie bedraagt bij de mens de clearance van iodopyracet ongeveer 650 ml per minuut. Ze mag dan als maat gelden voor de plasmadoorstroming van de nieren.

Volgens Smith (1951) wordt bij de mens een T_m van iodopyracet van 90 mg/min of uitgedrukt in jodium van ongeveer 57 mg/min gevonden bij een plasmaconcentratie van 16 mg/ml iodopyracet ofwel van 0,10 mg/ml jodium. Deze T_m -waarde geldt voor beide nieren tezamen.

Uitgaande van een glomerulusfiltratie van 125 ml per minuut, een plasmadoorstroming van de nieren van 650 ml per minuut, een percentage eiwitbinding van ongeveer 25% voor iodopyracet bij een lage plasmaconcentratie en een T_m van 90 mg/min voor dit contrastmiddel, zal de totale plasmaconcentratie ($[S]_p$) waarbij deze T_m bereikt wordt zijn:

$$[S]_p = \frac{90}{650 - 125 \times 0,75} = 0,16 \text{ mg/ml}$$

Dit komt overeen met de opgegeven plasmaconcentratie van Smith (1951). Het zou overigens juister zijn om de T_m op te geven in mol of mmol/min, vooral wanneer men de T_m -waarden van verschillende substanties wil vergelijken. Voor iodopyracet wordt dan de T_m 0,22 mmol/min.

Guyton (1956) geeft een zelfde T_m voor iodopyracet op als Smith (1951). Deze overeenkomst is maar ogenschijnlijk, daar Guyton bij zijn berekeningen geen rekening heeft gehouden met de plasma-eiwitbinding van deze substantie. Zowel bij de berekening van de T_m als voor de fractie, welke glomerulair gefiltreerd wordt, gaat hij uit van de totale plasmaconcentratie van 0,40 mg jodium/ml. Bij een inulineclearance van 125 ml per minuut wordt dus 50 mg jodium per minuut gefiltreerd. Waar de totale uitscheiding gesteld wordt op 107 mg jodium per minuut, betekent dit een tubulaire uitscheiding van 57 mg jodium/min.

Dat de opgegeven plasmaconcentratie van 0,40 mg jodium/ml niet de vrije maar totale concentratie is, volgt uit de opgave dat 142,5 ml plasma door de tubuli wordt geklaard, hetgeen weer een T_m geeft van 57 mg jodium/min.

Bij de berekening van de fractie, welke door de glomeruli wordt gefiltreerd, had genoemde auteur moeten uitgaan van de vrije plasmaconcentratie.

Josephson (1952) geeft als T_m voor iodopyracet op 25-50 mg jodium/min, hetgeen bereikt wordt bij een plasmaconcentratie van 0,15 tot 0,20 mg jodium/ml of 0,24 tot 0,30 mg iodopyracet/ml. Er valt uit zijn artikel niet op te maken of dit gegevens zijn betrekking hebbend op één of beide nieren. Bovendien valt uit niets af te leiden of hier bedoeld wordt de totale dan wel de vrije plasmaconcentratie van het röntgencontrastmiddel. Ongeveer dezelfde plasmaconcentraties vindt men bij Elsom en medewerkers (1936) en Landis (1936). Bij honden wordt een T_m voor iodopyracet gevonden van 14 mg per minuut per nier (Woodruff c.s. 1960). Blijkens de clearancetabel, zoals door deze auteurs opgegeven, zou de plasmaconcentratie, waarbij het tubulaire maximum zichtbaar wordt, in ieder geval beneden 0,20 mg/ml liggen.

2. *Acetrizoate*

Een van de eerste mededelingen omtrent de uitscheiding van acetrizoate door de nieren is afkomstig van Neuhaus en medewerkers (1950). De hoge clearance, door deze auteurs gevonden, zou er op wijzen dat dit röntgencontrastmiddel

naast een glomerulaire filtratie voor een belangrijk deel door een actief tubulair transport wordt uitgescheiden, waarschijnlijk zelfs in gelijke mate als iodopyracet. Het betreft hier echter slechts een onderzoek bij een drietal patiënten, terwijl een gelijktijdige bepaling van een inuline- of creatinineclearance achterwege is gebleven. Bovendien is voor de berekening van de clearance uitgegaan van de vrije plasmaconcentratie in plaats van de totale plasmaconcentratie. Dat men dan tot een hoge clearance komt is begrijpelijk gezien de hoge eiwitbinding van dit röntgencontrastmiddel (hoofdstuk IV).

Uit nauwkeurige clearancebepalingen van deze substantie bij honden met gelijktijdige bepaling van de creatinineclearance (exogeen creatinine) wordt een zekere deelname van de tubuli aan de uitscheiding toch wel duidelijk (Langecker c.s. 1953, Knoefel c.s. 1956 en Porporis c.s. 1954).

Volgens de waarnemingen van Porporis en medewerkers (1954) wordt een maximale tubulaire excretie gevonden bij een plasmaconcentratie van 0,30 mg/ml, terwijl de T_m van dit röntgencontrastmiddel ligt in de orde van 0,15 mg per kg lichaamsgewicht per minuut voor beide nieren samen. Dit is dus beduidend lager dan voor iodopyracet.

In afwijking hiervan vinden Woodruff en Malvin (1960) een T_m van ongeveer 2,85 mg per minuut per nier, of $5 \cdot 10^{-3}$ mmol tegenover $3 \cdot 10^{-2}$ mmol voor iodopyracet.

Knoefel en Huang (1956) komen weer tot geheel andere resultaten. Zij vinden namelijk een zeer lage tubulaire excretie welke meer een lineaire functie is van de plasmaconcentratie. Een tubulair maximum wordt door deze auteurs niet aangegeven.

Acetrizoorate remt bij honden de tubulaire excretie van PAH (Porporis c.s. 1953, 1954) en fenolrood (McChesney c.s. 1957), hetgeen wijst op een mogelijkheid dat acetrizoorate door de tubuli actief wordt uitgescheiden.

Anderzijds daalt de clearance van acetrizoorate na een voorafgegeven dosis probenecid (Dominguez c.s. 1956).

In zijn dissertatie merkt Scherf (1961) op dat de minder contrastrijke intraveneuze pyelogrammen na penicilline, PAH en fenolrood veroorzaakt worden door het feit dat genoemde stoffen enig diuretisch effect hebben, zodat de urine minder geconcentreerd is. Er moet hier eerder worden gedacht aan een competitie voor het actief-transportmechanisme.

'Stop flow' experimenten bij honden hebben aangetoond dat bij plasmaconcentraties beneden 0,50 mg/ml een tubulaire excretie waarneembaar is, terwijl bij hogere concentraties alleen het beeld van een filtratie wordt gezien (Woodruff

c.s. 1960). Deze bevindingen worden ondersteund door Piemonte en Magno (1958) alsmede door Porporis en medewerkers (1954) door middel van clearancebepalingen. Bij hoge plasmaconcentraties zou er een verstoring kunnen optreden van het tubulaire transportmechanisme of de diffusie uit de tubuluscellen zou kunnen worden geremd door de hoge urineconcentratie. Bovendien wordt bij hoge concentraties een actieve tubulaire excretie steeds moeilijker aantoonbaar, vooral wanneer het tubulaire maximum niet hoog is.

Tot nu toe is alleen sprake geweest van glomerulaire filtratie en actieve tubulaire excretie. Men dient zich echter nog af te vragen of er een passief transport van acetrizooate plaatsvindt.

Knoefel en medewerkers (1961^a) vermelden door middel van hondenproeven een verband te hebben aangetoond tussen urine-pH en uitscheiding van acetrizooate. Uit hun experimenten met een urine-pH, die wisselt van 7,5 tot 5,5, blijkt de hoeveelheid acetrizooate die door de nier wordt uitgescheiden slechts aan lichte veranderingen onderhevig te zijn. Alleen bij een plasmaconcentratie boven de 0,35 mg/ml wordt eenmaal een lagere uitscheiding gezien bij een urine-pH van 5,5. Uit hun uitscheidingscurve van acetrizooate blijkt de urineflow evenmin een verandering van betekenis in de uitscheiding teweeg te brengen.

De pK_a van 2,01 kan moeilijk correleren met een sterke invloed van de urine-pH op de uitscheiding van acetrizooate, zeker wanneer de K_p -waarde laag is. Door acetrizooate op twee verschillende wijzen in de urine aan te tonen, namelijk door oxydatie met chroomtrioxyde en door een colorimetrische methode, komen Neuhaus en medewerkers (1950) tot de conclusie dat dit röntgencontrastmiddel onveranderd in de urine aanwezig is. Zij zijn dan ook van mening dat de door hen onderzochte substanties, waaronder acetrizooate, niet als conjugaten worden uitgescheiden.

Acetrizooate, evenals andere geïodeerde acetaminobenzoëzuren, zou geen metabole veranderingen in het organisme ondergaan (Knoefel c.s. 1961^a en Langecker c.s. 1953).

3. *Diatrizooate*

Uitgaande van de totale plasmaconcentratie van diatrizooate wordt een clearance gevonden welke nagenoeg overeenkomt met de inuline- of creatinineclearance, hetgeen dus wil zeggen dat dit röntgencontrastmiddel alleen door een glomerulaire filtratie wordt uitgescheiden (Abt c.s. 1961, Blaufloxx c.s. 1963, Chamberlain c.s. 1966, Feine 1964, Kimbel 1962, McChesney c.s. 1957, Meschan c.s. 1963,

Morris c.s. 1965, Schlungbaum 1962, Willenbrink c.s. 1959 en Woodruff c.s. 1960). Bij de mens is de clearance van diatrizoate gelijk aan de inulineclearance en derhalve een maat voor de glomerulaire filtratie (Bianchi c.s. 1964, 1965^a, 1965^b en Burbank c.s. 1963).

Men komt echter ook publikaties tegen waarin melding wordt gemaakt van een bijdrage van het actieve tubulaire transport in de totale uitscheiding van diatrizoate, zij het dan dat deze bijdrage maar gering zou zijn en niet meer zou bedragen dan 2 tot 3 % (Knoefel c.s. 1956, Langecker c.s. 1954 en Squire c.s. 1959).

Langecker en medewerkers (1954) vinden een tubulaire excretie alleen bij een vrije plasmaconcentratie welke lager is dan 0,01 mg/ml.

Bij de hond wordt een T_m gevonden van 5 mg jodium per kg lichaamsgewicht per minuut (Knoefel 1961^b).

Bij de renografie, een nierfunctie-onderzoek met radioactief gemerkte röntgencontrastmiddelen, is waargenomen dat bij diatrizoate als Na-zout de functionele fase van de curve, welke weergeeft het tijdstip waarop het contrastmiddel door de nier wordt uitgescheiden, nagenoeg samenvalt met die van iodohippurate (Denneberg 1960, Montaudon c.s. 1962 en Winter c.s. 1958, 1963). Dit wordt geïnterpreteerd als wijzend op een tubulaire excretie van diatrizoate. Toegediend als methylglucaminezout zou er slechts een zeer geringe tubulaire excretie optreden (Winter 1963). Bij dit röntgencontrastmiddel zou de zoutvorm dan wel van betekenis zijn voor de uitscheiding door de nieren.

Een actief tubulair transport van diatrizoate wordt weer minder vaststaand door de waarneming dat PAH de uitscheiding van dit contrastmiddel niet beïnvloedt (Willenbrink c.s. 1959), terwijl omgekeerd de PAH-clearance nauwelijks door diatrizoate wordt aangetast (McChesney c.s. 1957).

Een merkwaardige opmerking wordt gevonden in een publikatie van Denneberg (1960). Na injectie van radioactief gemerkt diatrizoate (Hypaque® J¹³¹), in een dosering van 100 tot 200 mg totaal bij patiënten, vindt deze auteur een veel lagere diatrizoate-inulineclearance quotiënt dan bij iodopyracet en inuline. Hij verbindt hieraan de veronderstelling dat diatrizoate de glomerulusmembran niet vrij passeert, maar in hoofdzaak wordt uitgescheiden door een relatief langzaam transport via de tubuluscellen. De 'stop flow' experimenten van Woodruff en Malvin (1960) tonen echter een uitscheidingspatroon van diatrizoate dat gelijk is aan dat van creatinine.

Voor wat de mogelijkheid tot een passieve terugdiffusie van diatrizoate betreft kunnen we alleen refereren aan het artikel van Knoefel en medewerkers (1961^a).

Bij verandering van de pH van de urine wordt in principe hetzelfde gezien als bij acetizoate. Een passieve terugdiffusie van enige betekenis wordt niet gevonden.

Van diatrizoate is tot op heden geen conjugaatvorming in de nieren aangetoond.

4. *Metrizoate*

Over de wijze waarop metrizoate door de nier bij mens en hond wordt uitgescheiden zijn geen gegevens over clearance of 'stop flow' experimenten bekend. Er zijn wel enkele onderzoeken gedaan met dit röntgencontrastmiddel voor wat betreft de hoeveelheid welke in een bepaalde tijd wordt uitgescheiden, waarbij deze gegevens vergeleken worden met die van diatrizoate.

Uit experimenten met verschillende doseringen van metrizoate bij honden en konijnen zou blijken dat dit röntgencontrastmiddel op dezelfde wijze als diatrizoate door de nieren wordt uitgescheiden (Nyegaard & Co 1964).

5. *Iothalamate*

Op grond van goede contrastrijke röntgenfoto's wordt aangenomen dat iothalamate beter wordt uitgescheiden door de nieren dan de andere röntgencontrastmiddelen (Marshall c.s. 1963).

Van meer waarde zijn de waarnemingen dat iothalamate alleen door middel van een glomerulaire ultrafiltratie door de nieren wordt uitgescheiden. Clearancebepalingen met dit röntgencontrastmiddel bij mensen, tezamen met de inulineclearance, hebben dit waar gemaakt (Elwood c.s. 1965 en Sigman c.s. 1965, 1966). Een passieve terugdiffusie is niet gevonden (Griep c.s. 1966).

6. *Iodamide*

De eerste berichten spreken van een bijzonder snelle uitscheiding van iodamide door de nieren, waarvan de uitscheiding hoger zou zijn dan van de andere röntgencontrastmiddelen behorend tot de geïodeerde benzoëzuurderivaten (Boccadoro 1965). Deze mededeling wordt niet ondersteund met clearancebepalingen.

In de eerste minuten na injectie van iodamide zou de uitscheiding ervan die van iodopyracet naderen.

Bij konijnen zou een clearance van iodamide gevonden zijn welke groter is dan van inuline of creatinine (Bonati c.s. 1965). Exacte gegevens worden echter niet verstrekt. Omtrent een eventuele passieve terugdiffusie is evenmin iets bekend. Over het algemeen zijn de gegevens nog te spaarzaam en te onvolledig om met enige zekerheid iets te kunnen zeggen over het uitscheidingspatroon van iodamide.

7. Mengsel van contrastmiddelen

Het meest bekende, maar nauwelijks gebruikte, röntgencontrastmiddelenmengsel is Ditriakon®, bestaande uit Hypaque® en Miokon®. Beide contrastmiddelen worden alleen door glomerulaire filtratie uitgescheiden. Van het mengsel kan men moeilijk meer verwachten.

Om tot betere röntgenfoto's van de nieren te komen gebruikt Svoboda (1964) een mengsel van iodopyracet en acetrizooate. Aangezien iodopyracet zonder twijfel tubulair wordt uitgescheiden en dit voor acetrizooate waarschijnlijk is, lijkt ons deze combinatie weinig hoopvol. Afhankelijk van de affiniteit voor het transportmechanisme kan het ene contrastmiddel de tubulaire uitscheiding van het andere remmen.

8. Structuur en uitscheiding

Algemeen wordt aangenomen dat substanties met veel hydrofiële resten in het molecuul, zoals carboxyl-, hydroxyl- en aminogroepen, gemakkelijk door de nieren worden uitgescheiden (Gloxhuber 1965). De niercontrastmiddelen hebben een overwegend hydrofiel karakter.

Dat de meeste röntgencontrastmiddelen alleen maar door glomerulaire filtratie worden uitgescheiden, wijst er op dat voor een actief tubulair transport andere moleculaire eigenschappen van betekenis zijn dan alleen maar de aanwezigheid van een carboxylgroep.

De moleculaire specificiteit voor het actieve tubulaire transport van met name de benzoëzuurderivaten is onderzocht door Knoefel en medewerkers (1956, 1961^a).

Benzoëzuur en jodo-, amino- en hydroxybenzoëzuren worden blijkens hondenexperimenten niet door een actief tubulair transport uitgescheiden, maar vertonen daarentegen een tubulaire terugdiffusie. Bij substitutie van benzoëzuur met een acetylaminogroep in de 3-, 4- of 3,5-positie wordt wel een tubulaire excretie gevonden. Bij verder onderzoek vinden genoemde auteurs ook een

tubulaire excretie van ortho-acetylamino-benzoëzuur, maar vinden van deze substantie tevens een duidelijke teruggif, waarvoor een intramoleculaire attractie tussen de carboxylgroep en de acetylaminogroep belangrijk zou zijn. Jodering van diacetylamino-benzoëzuur geeft blijkens de meeste, reeds eerder vermelde gegevens uit de literatuur een contrastmiddel dat niet tubulair wordt uitgescheiden.

Met betrekking tot de passieve teruggif van de röntgencontrastmiddelen kan worden opgemerkt, dat door de hoge polariteit en de grote wateroplosbaarheid een gif door de tubulusmembraan gering zal zijn.

SAMENVATTING

Behalve door glomerulaire ultrafiltratie is de nier in staat organische substanties uit het organisme te verwijderen via een actief tubulair transportmechanisme, waarvoor energie vereist is. Dit transport, dat in de proximale tubuli plaatsvindt, steunt op experimentele waarnemingen betreffende de clearance van een aantal organische stoffen, welke clearance boven de glomerulaire filtratie uitstijgt. Aangenomen wordt dat er twee actief-transportmechanismen bestaan, een voor organische zuren en een voor organische basen. Op basis van een dragerhypothese is het mogelijk het actief transport en in het bijzonder het competitieverschijnsel te verklaren. Over de juiste aard van complexvorming tussen substraat en carrier tast men nog in het duister.

Het transport van een organische substantie vanuit het postglomerulaire plasma naar de tubulusurine verloopt via een aantal compartimenten, zijnde plasma, peritubulaire vloeistof, peritubulaire celwand, intracellulaire vloeistof, celwand aan de zijde van het tubuluslumen en het uiteindelijk ontvangende compartiment, de tubulusurine. Belangrijk voor het actieve transport is het feit dat de vrije concentratie van een organische substantie in het plasma vele malen lager is dan de concentratie ervan in de tubulusurine ten gevolge van de waterterugdiffusie. Deze concentratiegradiënt moet dus overwonnen worden, hetgeen een actief energievragend transport vereist. Voor de meeste organische zuren, welke actief getransporteerd worden, geldt dat ze bij een fysiologische pH (7,4) sterk geïoniseerd zijn. Aangezien celmembranen beschouwd mogen worden als lipide membranen, daardoor alleen doorgankelijk voor de niet-geïoniseerde vorm van een organische substantie, zal de actieve fase van het transport in een van de celwanden gelokaliseerd zijn. Gezien de effectiviteit van het actieve tubulaire transport en de aard van de organische substantie wordt aangenomen dat de geïoniseerde vorm getransporteerd kan worden. Het aanbod van de geïoniseerde vorm van de stof is het grootst aan de membraan aan de peritubulaire zijde van de cellen, zodat een lokalisatie van de actieve, energievragende fase van het transport in deze celmembraan het meest voor de hand ligt. Deze veronderstelling wordt ondersteund door het feit dat blokkade van de energielevering het transport en de opname van organische substanties in de cellen ver-

hindert, terwijl de mitochondriën, die voor de energielevering kunnen zorgen, voornamelijk aan de peritubulaire zijde in de cel zijn gelegen.

Bij lokalisatie van het actieve transport in de peritubulaire celmembraan en bij aannahme van een iets lagere pH in de intracellulaire vloeistof dan in de tubulusurine, zal de concentratie van de organische zuren in de ongedissocieerde vorm in de tubuluscel hoger kunnen worden dan die in de tubulusurine, zonder dat de totale concentratie van de stof in de cel eveneens hoger is dan in de tubulusurine. Een nog groter concentratieverschil voor zowel niet-geïoniseerde als geïoniseerde vorm van de stof, zal echter tussen tubuluscel en peritubulaire vloeistof optreden. Een diffusie van de substantie, in het bijzonder in de ongedissocieerde vorm, naar de peritubulaire ruimte zou dus gemakkelijker verlopen dan naar de tubulusurine. De polaire bouw van de tubuluscel doet vermoeden dat er een verschil bestaat in karakter van de twee celmembranen, zodat ondanks de concentratiegradiënt geen terugdiffusie naar de peritubulaire vloeistof optreedt. De peritubulaire celwand zou een lipoïdmembraan zijn, slecht doorgankelijk voor geïoniseerde en sterk hydrofiele stoffen. De celmembraan aan de lumenzijde zou daarentegen niet alleen doorlaatbaar moeten zijn voor de lipoïd-oplosbare niet-geïoniseerde vorm van de organische substanties, maar ook voor de hydrofiele en sterk geïoniseerde stoffen. Men kan hier uiteraard ook een passief carriergebonden transport voor dergelijke stoffen aannemen in plaats van de eenvoudige diffusie. Voor het actieve tubulaire transport wordt verondersteld dat een substraat-carriercomplex gevormd wordt, waarbij het complex als zodanig de celmembraan kan passeren. Het verschil in plasmaconcentratie, waarbij het tubulaire maximum (T_m) voor verschillende organische zuren wordt bereikt, kan berusten op verschillen in de associatieconstante bij de complexvorming. Het verschil in T_m voor de diverse organische zuren zou dan berusten op een verschil in activeringssnelheid of dissociatiesnelheid van het substraat-carriercomplex van de verschillende stoffen. De opvattingen over het actieve tubulaire transport blijven hypothetisch zolang niet meer bekend is over de ultrastructuren en de moleculaire specificiteit van de cellen.

Nadere bestudering van de invloed van een partiële blokkade van de energieleverende processen op de waarde van T_m en de plasmaconcentratie waarbij deze bereikt wordt, kan verhelderend werken.

Organische substanties kunnen ook via de wand van de distale tubuli terugdiffunderen naar de peritubulaire ruimte. Lipoïdoplosbaarheid, dissociatieconstante van de stof, de H^+ -ionengradiënt tussen urine en plasma en de mate van terugdiffusie van water in de tubuli zijn factoren die op dit passieve transport

van invloed zijn. Tenslotte is de nier in staat om door middel van vorming van conjugaten organische substanties uit te scheiden.

Van de röntgencontrastmiddelen speelt voor iodopyracet naast filtratie door de glomeruli zonder twijfel tubulaire uitscheiding een rol. De röntgencontrastmiddelen behorend tot de geïodeerde benzoëzuurderivaten worden bijna allen, voor zover bekend, uitsluitend glomerulair gefiltreerd. Alleen acetrizoate lijkt enige tubulaire excretie te ondergaan. Het tubulaire maximum staat hierbij niet vast. Een waarneembare teruggediffusie van de röntgencontrastmiddelen valt niet te verwachten op grond van de hoge polariteit en de sterke oplosbaarheid in water. Conjugaatvorming door de nieren is voor de röntgencontrastmiddelen, die hier besproken zijn, niet gevonden.

The excretion of drugs and especially radiopaque agents by the kidney takes place by glomerular ultrafiltration while in a number of cases active tubular transport mechanisms are involved, too. The contribution of active transport which takes place in the proximal tubules is manifested in a raise of the clearance of the compounds involved above the clearance expected on the basis of glomerular filtration alone. In general two active transport mechanisms involved in the excretion of organic compounds appeared to exist, one for organic acids and one for organic bases. The competition phenomena observed within these groups of compounds are interpreted on the basis of a carrier system involved in the active transport mechanism. Detailed information on the interaction between substrate and carrier is lacking. As a rule besides the acidic or basic properties - ionized groups seem to be required (table 1) - certain hydrophobic moieties seem to be necessary.

The transport of the organic compounds, for instance, the organic acids used as contrastmedia, from the postglomerular plasma phase to the tubular urine takes place via a number of compartments, namely the plasma compartment, the peritubular extracellular fluid compartment, the peritubular wall of the cells, the intracellular fluid in these cells, the cell wall at the side of the tubular lumen and finally the receiving compartment, the tubular urine (figure 1). An important aspect of the active transport via this system of compartments is the fact that the concentration of the organic acids in the tubular fluid, as a result of the reuptake of salt and water is many times higher than the concentration of the substance in unbound form in the plasma. The active transport mechanism which is a direct energy-requiring system has to overcome this concentration gradient. For most organic acids which are actively transported, and certainly for the various organic acids used as radiopaque agents, it holds true that at the physiological pH (7.4) they are ionized to a very high degree. Since there is good evidence that most cell membranes, because of their lipid character, can only be passed by the larger organic molecules in the unionized form as far as they are sufficiently lipid-soluble, the active phase of the transport probably has to be located in or on the outer membrane of the cell. The most evident

property of the various organic acids including sulfates and phenols which can be transported actively via the tubular wall, is the possibility to exist in the ionized, and therefore negatively charged form. It is highly probable that these compounds are accepted by the active transport mechanism in their ionized form. The concentration of the organic acids in the ionized form in the peritubular compartment is very high as compared to the concentration of these compounds in the unionized form, which means that the high concentration of the compound is present there in a form suitable for active transport. The active transport mechanism therefore is postulated to be located in the membrane at the peritubular side. This postulation is also based upon the fact that the density of the mitochondria, involved in the energy production, is especially high at the peritubular side of this cell. The consequence of such a localization is a high concentration of the compounds involved in the intracellular fluid, a concentration high enough to produce a concentration gradient in the direction of the tubular urine, where as mentioned the concentration is high already. On the basis of the somewhat lower pH in the intracellular fluid it is possible that a concentration gradient for the nonionized form exists between the intracellular fluid and the tubular urine while the total concentration intracellularly is lower than in the tubular urine. However, the gradient of the unionized form would still be steeper between the intracellular compartment and the peritubular compartment. The asymmetry in the structure of the tubular cell makes it probable that both membranes at the entry side and the exit side differ in character. If at the peritubular cell wall are postulated lipid membranes only permeable for the unionized form and at the other side a membrane permeable for the ionized and unionized form, this system is suitable to perform the active transport as indicated. As far as the active transport is concerned, two parameters have a special significance and well the so-called tubular maximum indicating the maximal turn-over capacity for the various organic acids and the plasma concentration at which the tubular maximum is reached. At this plasma concentration apparently a saturation of the transport system at the entry side takes place which means that this concentration, at least as far as the drug in the non-protein-bound form is concerned, gives an indication for the association constant for the formation of the drug-carrier complex. The differences in the tubular maximum for the various compounds might be due then to a difference in the rate of activation of the complex or the rate of dissociation of the substrate from the substrate-carrier complex. In a study of structure-activity relationship as far as the active excretion of organic acids and bases is concerned,

the plasma concentration of the unbound form at which the tubular maximum is reached and the tubular maximum as such should be considered as main parameters, besides the pK_a values and the lipid-water partition coefficients of the compounds.

An experimental analysis of the influence of a partial blockade of the energy-supplying system on the value for the tubular maximum and the plasma concentration at which this is reached, may be elucidative.

As far as organic compounds with a sufficient lipid-solubility are concerned, a passive back-diffusion of the undissociated form to the peritubular space can be involved. This especially holds true for the various compounds in the unconjugated form, since most conjugates such as glucuronides have a too low lipid-solubility or are strong acids such as the phenol sulfates and are therefore practically 100% ionized.

Of the various contrastmedia used in pyelography, for iodopyracet active tubular excretion is most clearly established. The radiopaque agents belonging to the group of iodinated benzoic acid derivatives are as far as information goes practically exclusively excreted by glomerular filtration. Only for acetrizoate some active tubular excretion appears to be involved. Taken into account the high hydrophilicity, the high water-solubility and the relatively high pK_a values, reuptake by passive diffusion is practically excluded. Also conjugation of this strongly polar highly ionized compounds appears to be negligible.

LITERATUUR

- ABT, A. F. en V. A. BALKEN: J. Urol. 1961, 85, 95.
- ARIËNS, E. J.: Symposium Universiteit Nijmegen: Uitwisseling tussen extra- en intracellulaire ruimten 1963, 97.
- ARIËNS, E. J.: Molecular Pharmacology 1964.
- BARCLAY, J. A., W. T. COOKE en G. DE MURALT: J. Physiol. 1949, 108, 8 P.
- BEYER, K. H., R. M. PAINTER en V. P. WIEBELHAUS: Am. J. Physiol. 1950, 161, 259.
- BIANCHI, C. en P. TONI: Excerpta Medica Intern. Congress Series, 1964, 78, 517.
- BIANCHI, C., A. MEOZZI en A. ZEMPIERI: Minerva Nucl. 1965, 9, 157.
- BIANCHI, C.: Lancet 1965, 11, 1016.
- BINZ, A. en H. MAIER BODE: Biochem. Ztschr. 1932, 252, 16.
- BLACK, D. A. K., J. F. POWELL en F. H. KEMP: J. Pharmacol. exp. Ther. 1941, 71, 315.
- BLAUFOX, M. D., D. R. SANDERSON, W. N. TAUXE, K. G. WAKIM, A. L. ORVIS en C. A. OWEN Jr.: Am. J. Physiol. 1963, 204, 536.
- BOCCADORO, B.: Arzneimittel. Forsch. 1965, 15, 229.
- BONATI, F., G. F. ROSATI en M. G. POLETO: Arzneim.-Forsch. 1965, 15, 222.
- BRAUN, W.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 1960, 239, 400.
- BRAUN, W., I. HESSE en G. MALORNY: Arch. exp. Path. Pharmacol. 1963, 245, 457.
- BRODIE, B. B. en HOGGEN, C. A. M.: J. Pharm. Pharmacol. 1957, 9, 345.
- BURBANK, M. K., W. U. TAUXE, F. T. MAHER en J. C. HUNT: J. Physiol. (Paris) 1963, 55, 433.
- BURDON, S., R. LICH en J. E. MAURES: Urol. 1950, 63, 745.
- CHAMBERLAIN, M. J. en T. SHERWOOD: Brit. J. Radiol. 1966, 39, 765.
- COPENHAVER, J. H. en R. P. FORSTER: Am. J. Physiol. 1958, 195, 327.
- CROSS, R. J. en J. V. TAGGART: Am. J. Physiol. 1950, 161, 181.
- DEETJEN, P. en H. SONNEBERG: Pflügers Arch. ges. Physiol. 1963, 278, 48.
- DEETJEN, P.: 3e Symp. d. Gesellsch. f. Nephrologie 1964, 19.
- DEMARIA W., R. P. KRUEGER, A. P. SANDERS, J. M. JAMES, V. A. POLITANO en G. J. BAYLIN: Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.) 1960, 104, 762.
- DENNEBERG, F.: Acta Chir. Scand. 1960, 118, 231.
- DESPOPOULOS, A., D. ARCHER, K. C. HUANG en P. K. KNOEFEL: Fed. Proc. 1958, 17, 363.
- DOMINGUEZ, R. en R. B. ADAMS: Am. J. Physiol. 1956, 183, 610.
- EDLING, N. P. G., C. G. HELANDER en S. I. SELDINGER: Acta Radiol. 1957, 48, 1.
- ELSOM, K. A., P. A. BOTT en E. H. SHIELS: Am. J. Physiol. 1936, 115, 548.
- ELSOM, K. A., P. A. BOTT en A. M. WALKER: Am. J. Physiol. 1937, 118, 739.
- ELWOOD, C. M., J. ARMENIA, D. OSMAN, A. MORRIS en E. M. SIGMAN: J.A.M.A. 1965, 193, 771.
- ENGSTRÖM, A. en B. JOSEPHSON: Am. J. Physiol. 1953, 174, 61.
- EWELL, G. H. en K. W. BRUSKEWITZ: Urol. Cutan. Rev. 1950, 54, 714.
- FEINE, U.: Ergebnisse der Medizinischen Strahlenforschung I 1964, 318.
- FORSTER, R. P. en S. K. HONG: J. gen. Physiol. 1962, 45, 811.
- FOULKES, E. C. en B. F. MILLER: Am. J. Physiol. 1959, 196, 86.

- GLOXHUBER, CHR.: Röntgenblätter 1965, 18, 479.
- GOTTSCHALK, C. W., M. MEYELL en W. C. LASSITER: Fed. Proc. 1959, 18, 58.
- GOTTSCHALK, C. W., W. C. LASSITER en M. MEYELL: Am. J. Physiol. 1960, 198, 581.
- GRIEP, R. J. en W. B. NELP: J. Nucl. Med. 1966, 7, 370.
- GUTMAN, A. B., T. F. YU, en J. H. SIROTA: J. Clin. Invest. 1955, 34, 711.
- GUYTON, A. C.: Textbook of Medical Physiology 1956.
- HASTINGS, A. B.: Proc. 3rd int. Congr. Nephrol., Washington 1966, 1, 158.
- HIERHOLZER, K.: Am. J. Physiol. 1961, 201, 318.
- HÖBER, R.: Physical Chemistry of Cells and Tissues. Blakiston Co., Philadelphia 1954.
- JACOBS, M. H.: Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol. 1940, 8, 30.
- JOSEPHSON, B.: Acta Med. Scand. 1947, 128, 515.
- JOSEPHSON, B.: Acta Radiol. 1952, 38, 299.
- JOSEPHSON, B. en J. KALLAS: Am. J. Physiol 1953a, 174, 65.
- JOSEPHSON, B., G. EK, H. BUCK, L. WERKO, J. KALLAS en A. GRIEG: J. Clin. Invest. 1953b, 32, 1184.
- KIMBEL, K. H.: Nucl. Med. 1962, 2, 317.
- KNOEFEL, P. K. en K. C. HUANG: J. Pharmacol. exp. Ther. 1956, 117, 307.
- KNOEFEL, P. K., K. C. HUANG en C. H. JARBOE: J. Pharmacol. exp. Ther. 1961a, 134, 266.
- KNOEFEL, P. K.: Radiopaque Diagnostic Agents 1961b.
- KUTKA, M. en CHUN-HSIN-LU: Nucl. Med. 1963, 3, 326.
- LANDIS, E. M., K. A. ELSOM, P. A. BOTT en E. H. SHIELS: J. Clin. Invest. 1936, 15, 397.
- LANGECKER, H., A. HARWART en K. JUNKMANN: Arch. exp. Path. Pharmacol. 1953, 220, 195.
- LANGECKER, H., A. HARWART en K. JUNKMANN: Arch. exp. Path. Pharmacol. 1954, 222, 584.
- LOTSPEICH, W. D.: Metabolic aspects of Renal Function 1959.
- MARSHALL, T. R. en J. T. LING: Am. J. Roentgen. 1963, 89, 423.
- MCCHESNEY, E. W. en J. O. HOPPE: Am. J. Roentgen. 1957, 78, 137.
- MACPHERSON, C. R., M. D. MILNE en B. M. EVANS: Brit. J. Pharmacol. 1955, 10, 484.
- MESCHAN, I., W. E. DEYTON, H. E. SCHMID en F. C. WATTS: Radiology 1963, 81, 974.
- MILNE, M. D., B. M. SCRIBNER en M. A. CRANFORD: Am. J. Med. 1958, 24, 709.
- MONTAUDON, A., P. WENGER en H. W. ROTH: Schweiz. Med. Wschr. 1962, 92, 35.
- MORRIS, A. M., C. M. ELWOOD, E. M. SIGMAN en A. CATANZARO: J. Nucl. Med. 1965, 6, 183.
- MUDGE, G. H. en J. V. TAGGART: Am. J. Physiol. 1950a, 161, 173.
- MUDGE, G. H. en J. V. TAGGART: Am. J. Physiol. 1950b, 161, 191.
- NEUHAUS, D. R., A. A. CHRISTMAN en H. B. LEWIS: J. Lab. Clin. Med. 1950, 35, 43.
- NYEGAARD & CO.: Isopaque; basic data 1964.
- ORLOFF, J. en R. W. BERLINER: Ann. Rev. Pharmacol. 1961, 1, 287.
- VAN OS, G. A. J.: Pharmaceut. Wkbl. 1960, 9, 837(a).
- OVERTON, E.: Pflügers Arch. ges. Physiol. 1902, 92, 115.
- PIEMONTE, M. en L. MAGNO: Radiol. Med. (Torino) 1958, 44, 225.
- PORPORIS, A. A., O. C. ZINK, H. M. WILSON, C. N. BARRY, R. ROYCE en D. K. ROSE: Radiol. 1953, 60, 675.
- PORPORIS, A. A., G. V. ELLIOTT, G. L. FISCHER en C. B. MUELLER: Am. J. Roentgen. 1954, 72, 995.
- RICHTERICH, R.: Diuresis und Diuretica 1959, 91, 120.

- SCHANKER, L. S.: *Ann. Rev. Pharmacol.* 1961, 1, 29.
- SCHERF, P.: *Thesis Universiteit Frankfurt a.Main*, 1961.
- SCHLUNGBAUM, W.: *Fortschr. Röntgenstr.* 1962, 96, 795.
- SHIDEMAN, F. E., R. C. RATHBUN en F. STONEMAN: *Am. J. Physiol.* 1952, 170, 31.
- SIGMAN, E. M., C. M. ELWOOD, M. E. REAGAN, A. M. MORRIS en A. CATANZARO: *Invest. Urol.* 1965, 2, 432.
- SIGMAN, E. M., C. M. ELWOOD en F. KNOX: *J. Nucl. Med.* 1966, 7, 60.
- SMITH, H. W., N. FINKELSTEIN, L. ALIMINOS, B. CROWFORD en M. GRABER: *J. Clin. Invest.* 1945, 24, 388.
- SMITH, H. W.: *The Kidney Structure and Function in Health and Diseases* 1951.
- SMITH, H. W.: *Principles of Renal Physiology* 1956.
- SONNEBERG, H., H. OELERT en K. BAUMANN: *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 1965, 286, 171.
- SPERBER, I.: *Pharmacol. Rev.* 1959, 11, 109.
- SQUIRE, L. F. en J. U. SCHLEGEL: *Radiol.* 1959, 73, 849.
- SVOBODA, M. en A. SEHR: *Z. Urol. (Praag)* 1964, 57, 395.
- TAGGART, J. V.: *Science* 1956, 124, 401.
- TAGGART, J. V.: *Am. J. Med.* 1958, 24, 774.
- VOGEL, G., F. LAUTERBACH en W. KRÖGER: *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 1965a, 283, 151.
- VOGEL, G. en W. KRÖGER: *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 1965b, 286, 317.
- VOGEL, G. en W. KRÖGER: *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 1966a, 288, 342.
- VOGEL, G. en I. STAECKERT: *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 1966b, 292, 309.
- WEINER, I. M., J. A. WASHINGTON en G. H. MUDGE: *Bull. John Hopk. Hosp.* 1960, 106, 333.
- WEINER, I. M. en G. H. MUDGE: *Am. J. Med.* 1964, 36, 743.
- WHITE, H. L.: *Am. J. Physiol.* 1940, 130, 454.
- WILBRANDT, W.: *Symp. Soc. exp. Biol.* 1954, 136, 162.
- WILBRANDT, W. en H. ROSENBERG: *Pharmacol. Rev.* 1961, 13, 109.
- WILLENBRINK, J. en K. H. KIMBEL: *Arch. exp. Path. Pharmacol.* 1959, 236, 16.
- WINTER, C. C. en G. V. TAPLIN: *J. Urol.* 1958, 79, 573.
- WINTER, C. C.: *Renography* 1963, 88.
- WOO, T. H. en S. K. HONG: *Am. J. Physiol.* 1963, 204, 776.
- WOODRUFF, M. W. en R. L. MALVIN: *J. Urol.* 1960, 84, 677.

HOOFDSTUK IV

RÖNTGENCONTRASTMIDDELEN EN EIWITBINDING

I. INLEIDING

In het vorige hoofdstuk is reeds naar voren gebracht dat de binding van organische substanties aan de plasma-eiwitten mede van betekenis is voor de mate waarin deze stoffen door de nieren worden uitgescheiden, althans voor wat de glomerulaire filtratie betreft. Een interactie van een substantie met plasma-eiwitten bepaalt tevens mede de distributie van de substantie in het organisme. Voor de bepaling van de tubulaire uitscheiding van een organische substantie moet men de vrije concentratie kennen, teneinde de gefiltreerde hoeveelheid van de totaal uitgescheiden hoeveelheid te kunnen aftrekken.

Om nu een juist inzicht te verkrijgen in het uitscheidingspatroon van de röntgencontrastmiddelen, is een bestudering van de eiwitbinding ervan noodzakelijk gebleken.

In de literatuur zijn nauwelijks gegevens te vinden over de binding van röntgencontrastmiddelen aan eiwitten en met name over de afhankelijkheid ervan van de concentratie. Daarom is aan dit aspect van ons onderzoek bijzondere aandacht besteed.

Voor het onderzoek op eiwitbinding is vooral gebruik gemaakt van *in vitro* bepalingen aan zuiver runderalbumine. Ook het aantal bindingsplaatsen aan het albumine voor een bepaald contrastmiddel en de associatieconstanten ervan zijn berekend. Daarnaast is onderzoek verricht aan hondenplasma.

De *in vivo* onderzoeken verricht op eiwitbinding bij de hond zullen in hoofdstuk VI worden besproken.

II. LITERATUUROVERZICHT

Röntgencontrastmiddelen blijken in meerdere of mindere mate aan plasma-eiwitten gebonden te worden (Block c.s. 1959, Gloxhuber 1965, Langecker c.s. 1953, 1954, Lasser c.s. 1962^a, 1962^b en Smith c.s. 1938). De binding vindt hoofd-

zakelijk plaats aan het albumine (Lasser c.s. 1962^b en Schlunbaum 1962). De literatuurgegevens betreffende de eiwitbinding van de röntgencontrastmiddelen stemmen niet volledig overeen. Men dient hierbij echter te bedenken dat het vermogen tot eiwitbinding niet voor alle diersoorten gelijk is (Lasser c.s. 1962). Bovendien zijn de opgegeven bindingspercentages moeilijk te vergelijken, omdat niet altijd wordt opgegeven bij welke concentratie van de substantie de eiwitbinding is bepaald. Daarnaast maakt het een groot verschil of men de eiwitbinding bestudeert aan de hand van plasma of van een albumine-oplossing. Het verschil in bindingspercentage tussen plasma en een albumine-oplossing is des te groter wanneer het onderzoek plaatsvindt met zuiver albumine, waarbij vrijwel alle bindingsplaatsen aan het albumine nog vrij zijn; dit in tegenstelling tot het albumine in het plasma waar een deel van de voor röntgencontrastmoleculen geschikte bindingsplaatsen al bezet zijn door bv. vetzuren.

In die enkele gevallen, waarbij het percentage eiwitbinding bij meerdere plasmaconcentraties van een contrastmiddel wordt vermeld, worden soms gegevens gevonden welke beslist foutief moeten zijn. Zo worden in een publikatie van Langecker en medewerkers (1954), betreffende de binding van diatrizoate aan plasma-eiwit bij mensen en honden, percentages eiwitbinding vermeld, welke toenemen bij stijgende plasmaconcentratie van het contrastmiddel. Bovendien blijken soms de percentages van de vrije en gebonden fractie tezamen de 100% ruimschoots te overschrijden.

Over het algemeen worden van iodopyracet en acetrizoate hogere bindingspercentages (30-40%) vermeld dan van diatrizoate (20%). Het enige verschil tussen acetrizoate en diatrizoate is het al dan niet aanwezig zijn van een acetylaminogroep op de 5-plaats aan de benzeenring. Bij bezet zijn van deze plaats, zoals bij diatrizoate, is de bindingsmogelijkheid aan eiwit kennelijk geringer. Klaarblijkelijk is ook de aanwezigheid van de drie jodiumatomen in het molecuul van betekenis, daar bij afwezigheid hiervan of vervanging door drie broomatoemen de binding aan eiwit lager wordt (Lasser c.s. 1962).

Uit een onderzoek van Kutt en medewerkers (1960, 1962) is gebleken dat röntgencontrastmiddelen een invloed hebben op de elektroforetische mobiliteit van plasma-eiwitten. De albumine- en α - en β -globulinepieken worden vlakker of verdwijnen, afhankelijk van de gebruikte hoeveelheid van het contrastmiddel. Een deel van de eiwitten, vooral het albumine, beweegt zich met een gelijke snelheid als het contrastmiddel, in het onderzochte geval diatrizoate, naar de anode. Dit wijst op een binding van het contrastmiddel aan dit eiwit.

De binding van röntgencontrastmiddelen aan plasma-eiwitten blijkt bij de mens

hoger te zijn dan bij de hond (Langecker c.s. 1953 en Schlungbaum 1962). Een vraag is of de binding van de verschillende röntgencontrastmiddelen aan dezelfde bindingsplaats van het eiwit plaatsvindt. Er blijkt een competitieve remming van de eiwitbinding te bestaan voor acetrizoate en een serie benzoë-zuurderivaten waaronder een aantal contrastmiddelen. De mate van remming loopt nogal uiteen en varieert van 8 % door diprotrizoate (Miokon®) tot 88 % door Cholegrafin®, een galblaascontrastmiddel (Lasser c.s. 1962^b).

Iodopyracet zou op een andere plaats aan het eiwit gebonden worden dan de andere contrastmiddelen, omdat het de eiwitbinding van acetrizoate niet beïnvloedt.

Hierbij zou voor iodopyracet de binding aan meerdere plaatsen op het eiwit plaatsvinden (Block c.s. 1959). Deze mening is gebaseerd op de waarneming dat bij concentraties beneden 1-2 mg % de clearance van radioactief gemerkt iodopyracet niet groter wordt bij toevoeging van niet-gemerkt iodopyracet. Het gaat hier in feite om een competitieverschijnsel tussen radioactief gemerkt en niet-gemerkt iodopyracet voor de eiwitbinding, maar ook voor het actieve tubulaire transportmechanisme. Bij de uiterst lage plasmaconcentraties waarbij het onderzoek heeft plaatsgevonden mag worden aangenomen dat enerzijds er nog voldoende receptoren op de eiwitmoleculen vrij zijn voor binding van iodopyracet, waardoor de hoeveelheid radioactief gemerkt iodopyracet dat gefiltreerd wordt niet hoeft toe te nemen bij toevoeging van niet-gemerkt iodopyracet, terwijl anderzijds het tubulaire maximum voor iodopyracet nog lang niet bereikt is, zodat ook hierdoor de clearance onveranderd kan blijven. Van de nieuwere röntgencontrastmiddelen als metrizoate, iothalamate en iodamide zijn geen gegevens bekend over de binding ervan aan eiwitten.

Exacte gegevens over de relatie tussen de concentratie van het contrastmiddel en de procentuele eiwitbinding ontbreken in de literatuur voor alle contrastmiddelen.

III. THEORETISCHE BESCHOUWING OVER EIWITBINDING

Voor het fenomeen van de binding van röntgencontrastmiddelen aan eiwitten lijkt ons een korte theoretische beschouwing vooraf wel wenselijk.

Bij de binding van een substantie aan eiwitten bestaat er een dynamisch evenwicht tussen de vrije moleculen en die welke aan eiwitten gebonden zijn (van Os 1960). Bij een hoge plasmaspiegel van de substantie zal een relatief kleine fractie aan eiwit gebonden zijn.

Er van uitgaande dat de wet van de massawerking betrokken kan worden op de vorming van een substraat-eiwitcomplex (Klotz 1946), kunnen door berekening het aantal bindingsplaatsen aan het eiwitmolecuul en de associatieconstanten worden bepaald. Er zal eerst van worden uitgegaan dat alle groepen van het eiwitmolecuul, welke tot interactie met een substraat in staat zijn, een gelijke affiniteit bezitten voor een bepaald substraat.

De vorming van het substraat-eiwitcomplex kan als volgt worden weergegeven:



$[P_F]$ is de totale concentratie der vrije bindingsplaatsen aan het eiwit,

$[S]$ is de molaire concentratie van het niet-gebonden substraat en

$[PS]$ is de molaire concentratie van het substraat-eiwitcomplex of de molaire concentratie van de gebonden fractie van het substraat.

De associatieconstante (K) wordt dan:

$$K = \frac{[PS]}{[P_F][S]} \quad (1)$$

De totale concentratie aan bindingsplaatsen van het eiwit is $n[P]$.

n is het aantal bindingsplaatsen per eiwitmolecuul en

$[P]$ is de molaire concentratie van het eiwit.

In een vergelijking wordt dit:

$$n[P] = [P_F] + [PS]$$

$$\text{Ofwel:} \quad [P_F] = n[P] - [PS] \quad (2)$$

Bij substitutie van (2) in (1) verkrijgt men:

$$K = \frac{[PS]}{(n[P] - [PS])[S]}$$

Omwerking van deze vergelijking leidt tot de volgende formule:

$$\frac{[PS]}{[P]} = \frac{Kn[S]}{1 + K[S]} \quad (3)$$

Met $\frac{[PS]}{[P]}$ wordt weergegeven het aantal moleculen van een substantie dat per eiwitmolecuul wordt gebonden. Gebruikt wordt hiervoor het symbool r .

Om formule (3) grafisch te kunnen weergeven, wordt deze als volgt omgewerkt (Scatchard 1949):

$$r = \frac{Kn[S]}{1 + K[S]} \quad (4)$$

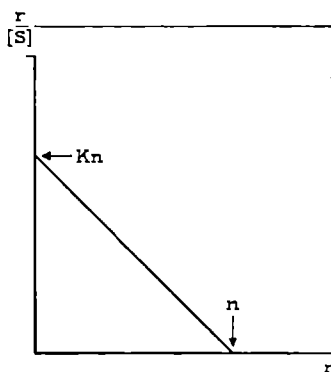
$$r + rK[S] = Kn[S]$$

$$r = Kn[S] - rK[S]$$

$$\frac{r}{[S]} = Kn - rK \quad (5)$$

Bij grafische weergave wordt $\frac{r}{[S]}$ op de ordinaat en r op de abscis uitgezet. De rechte lijn welke gevonden wordt bepaalt op de r -as het intercept n en op de $\frac{r}{[S]}$ -as het intercept Kn (figuur 1). Bij uitzetten van experimenteel gevonden

waarden voor $\frac{r}{[S]}$ en r blijkt er in de regel in het gebied van de lage concentraties van de substantie een ombuiging van de rechte lijn op te treden. Scatchard (1950) veronderstelt dan ook dat elke bindingsplaats op het eiwitmolecuul een eigen associatieconstante heeft.



FIGUUR 1: Grafische weergave van vergelijking 5

FIGURE 1: Diagram of equation 5:

r is the number of molecules of the contrastmedium bound per molecule of protein;

$[S]$ is the free molar concentration of the contrastmedium

Het blijkt nu dat een eiwitbindingscurve vaak goed in een theoretische curve is te vangen wanneer twee groepen van bindingsplaatsen n_1 en n_2 worden aangenomen met elk een eigen K -waarde, namelijk K_1 en K_2 (Karush 1950). Vergelijking (4) wordt dan:

$$r = \frac{K_1 n_1 [S]}{1 + K_1 [S]} + \frac{K_2 n_2 [S]}{1 + K_2 [S]} \quad (6)$$

ofwel

$$\frac{r}{[S]} = \frac{K_1 n_1}{1 + K_1 [S]} + \frac{K_2 n_2}{1 + K_2 [S]} \quad (7)$$

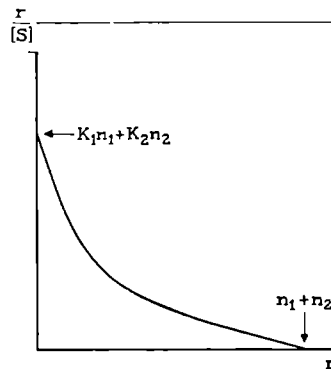
Uit vergelijking (6) en (7) kan worden afgeleid dat:

$$\lim_{[S] \rightarrow \infty} r = n_1 + n_2$$

en

$$\lim_{[S] \rightarrow 0} \frac{r}{[S]} = K_1 n_1 + K_2 n_2$$

De theoretische curve is in figuur 2 afgebeeld.



FIGUUR 2: Theoretische curve bij aanname van 2 groepen van bindingsplaatsen aan het eiwit-molecuul met elk een eigen associatieconstante

FIGURE 2: Theoretical protein binding curve. It is assumed that there exist 2 groups of binding places, n_1 and n_2 , with their own association constant, K_1 and K_2

Voor wat betreft de waarde voor K_1 en K_2 is de juiste situatie wel zo dat zij de gemiddelden vormen van de groepen bindingsplaatsen n_1 en n_2 . Op deze wijze wordt de eiwitbinding van een bepaalde substantie vrij nauwkeurig gekarakteriseerd.

IV. METHODIEKEN VOOR BEPALING VAN DE EIWITBINDING

1. *Factoren van invloed bij de bepaling van de eiwitbinding*

Bij de keuze van de methodiek om de binding van een substantie aan eiwit te bepalen neemt de nauwkeurigheid ervan een belangrijke plaats in.

De exactheid van de bepalingmethode is onder meer afhankelijk van de mogelijkheid tot correctie voor een aantal factoren, welke op de binding van een substraat aan eiwit van invloed zijn.

Met de volgende factoren moet rekening worden gehouden:

- a. de invloed van het Donnan-evenwicht,
- b. een correctie voor het plasmawater,
- c. de adsorptie van het substraat aan het membraanmateriaal gebruikt bij dialyse en ultrafiltratie,
- d. de invloed van de pH van het milieu,
- e. de invloed van bacteriële verontreiniging van het materiaal,
- f. de invloed van de temperatuur.

Op al deze factoren zal nu in het kort worden ingegaan.

a. *Donnan-evenwicht*

Men moet zich voorstellen dat in een compartiment, waarin NaCl (concentratie = C_{II}), een membraan geplaatst wordt, waarna in een helft van het compartiment het natriumzout van een eiwit (concentratie = C_I) wordt gebracht.

Bij Donnan-evenwicht zal nu:

$$\frac{Cl^-_I}{Cl^-_{II}} = \frac{Na^+_{II}}{Na^+_I}$$

Cl^-_I is de chloor-ionenconcentratie in compartiment I,

Cl^-_{II} is de chloor-ionenconcentratie in compartiment II,

Na^+_I is de natrium-ionenconcentratie in compartiment I, en

Na^+_{II} is de natrium-ionenconcentratie in compartiment II.

De verhouding van positieve of negatieve ionen wordt aangeduid met R, zodat:

$$R = \frac{Na^+_{II}}{Na^+_I}$$

Bij omwerking hiervan, zoals aangegeven door Bull (1951), verkrijgt men:

$$R = 1 + \frac{C_I}{2C_{II}}$$

Deze formule geldt voor ieder elektrolyt, dus bv. ook voor een röntgencontrastmiddel. Voegt men voldoende elektrolyt toe, bv. NaCl, dan nadert de waarde van R tot 1 en daarmee de verhouding van de vrije concentratie van bv. een contrastmiddel ook tot 1.

b. Correctie voor het plasmawater

In een eiwitoplossing zal het eiwit een aanzienlijk volume innemen. Voor berekening van de concentratie van een substantie in een eiwitoplossing, zoals plasma, is een correctie noodzakelijk.

De correctiefactor voor plasmawater (pW) is door McLean en Hastings (1935) aangegeven.

$$\text{pW} = (99,6 - 0,75 \times \% \text{ eiwit}) \text{ ml per } 100 \text{ ml plasma}$$

Indien we een oplossing hebben van eiwitmoleculen en kleine moleculen, dan zullen in het volume, ingenomen door de eiwitmoleculen, geen kleine moleculen aanwezig zijn. Met andere woorden, voor de berekening van de concentratie van een substantie in plasma moet men niet het totale volume in rekening brengen, maar het totale volume verminderd met het eiwitvolume. Dit is het volume plasmawater.

c. Adsorptie aan het membraan

Waar de eiwitbinding van een substantie wordt bepaald middels diffusie van de vrije fractie door een membraan, moet met de mogelijkheid van adsorptie van het substraat aan het membraan rekening worden gehouden.

Zowel aan de Visking dialyseslang als aan het collodionmembraan vindt adsorptie plaats van röntgencontrastmiddel (Rodrigues de Miranda 1967).

d. pH

Voor sommige substanties is een invloed van de pH van het milieu op de mate van binding aan eiwit vastgesteld (McMenamy c.s. 1958). Bij lagere pH neemt de binding van sommige organische substanties af (Goldbaum c.s. 1954). Mogelijk dat de oorzaak gezocht moet worden in een hogere positieve lading van het albumine bij pH 7,4 dan bv. bij pH 5,4 (Davison c.s. 1961). Binnen de fysiologisch bestaande pH-veranderingen is de invloed echter te verwaarlozen (Braun c.s. 1963). Bij alle experimenten is bij een constante pH van 7,4 gewerkt.

e. *Steriliteit*

Het blijkt dat door bacteriële verontreiniging van het eiwit of van de eiwitoplossing de bindingsmogelijkheid verandert (Scholtan 1962).

f. *Temperatuur*

Uit publikaties is naar voren gekomen dat door grote verschillen in temperatuur de mate van binding van een substantie aan eiwitten beïnvloed wordt. Bij lage temperatuur neemt de eiwitbinding van een substantie toe (Scholtan 1962). Om deze invloed te ondervangen zijn alle experimenten uitgevoerd bij 37°C.

2. *Evenwichtsdialyse*

Deze methode voor de bepaling van de eiwitbinding van een substantie blijkt de meest nauwkeurige. Voor bepalingen bij *in vivo* experimenten is echter de evenwichtsdialyse technisch moeilijk uitvoerbaar. Per bepaling is een grote hoeveelheid plasma nodig.

Als dialysevloeistof wordt gebruikt een fosfaat-NaCl-buffer (0,01 M fosfaat en 0,225 M NaCl). Bij een eiwitoplossing van 10^{-4} M is het Donnan-evenwicht dan ook van geen invloed op het dialyse-evenwicht.

Door meting van de concentratie van de onderzochte substanties aan beide zijden van het membraan, heeft de adsorptie aan het membraan geen invloed op de berekening van de eiwitbinding.

De evenwichtsdialyse is gemakkelijk uit te voeren bij een constante pH van 7,4, een constante temperatuur van 37°C en onder steriele omstandigheden.

Bij de *in vitro* experimenten met runderalbumine, afkomstig van Povit te Amsterdam, blijkt na 24 uur het evenwicht bereikt te zijn.

Als membraanmateriaal wordt gebruikt Visking dialyseslang na een voorbehandeling bestaande uit wassen in stromend water gedurende 24 uur en gedurende 6 uur in steriel water.

3. *Ultrafiltratie*

Deze methodiek heeft enkele grote nadelen. Het Donnan-evenwicht is bij de geleidelijk aan toenemende eiwitconcentratie niet meer te berekenen. Ook de correctie voor plasmawater is bij de zich veranderende eiwitconcentratie niet meer toe te passen.

De mate van adsorptie van de substantie aan het membraan is moeilijk te be-

palen. Bij gebruik van collodionzakjes is dit afhankelijk van de dikte van het materiaal, welke bij de preparatie kan wisselen.

Deze methodiek is derhalve niet nauwkeurig genoeg.

4. Ultracentrifugatie

Van deze methode blijkt nog onvoldoende bekend te zijn over de evenwichtsinstelling en de correctie voor plasmawater.

Bij de eerste oriënterende onderzoeken *in vitro* naar de eiwitbinding van contrastmiddelen zijn waarden gevonden welke sterk afwijken van de waarden verkregen met behulp van de evenwichts-dialyse.

De ultracentrifugatiemethode is dan ook niet toegepast.

5. Dialyseplaat

Deze methode is voor de eiwitbindingsbepaling, voor zover ons bekend, nog niet toegepast.

De dialyseplaat, o.a. in gebruik bij de auto-analyser, bestaat uit een overlangs doorgesneden spiraal van trovidur. De twee helften zijn van elkaar gescheiden door een membraan van cellofaan. De inhoud van iedere spiraal is ongeveer 1 ml.

Met behulp van een synchroon draaiende slangenpomp stroomt door de bovenste spiraal een eiwitoplossing met de te onderzoeken substantie, en door de onderste spiraal de dialysevloeistof. Door diffusie verplaatst de vrije substantie zich naar de onderste spiraal. In het dialysaat wordt de concentratie gemeten. Experimenteel is gebleken dat de diffusiesnelheid evenredig is met de vrije concentratie (hoofdstuk VI). De evenredigheidsconstante is bij een constante doorstroomsnelheid, binnen bepaalde grenzen onafhankelijk van de pH (0,2 eenheid) en de elektrolytsamenstelling (25 %).

Het Donnan-evenwicht is om dezelfde redenen als bij de evenwichts-dialyse van geen invloed.

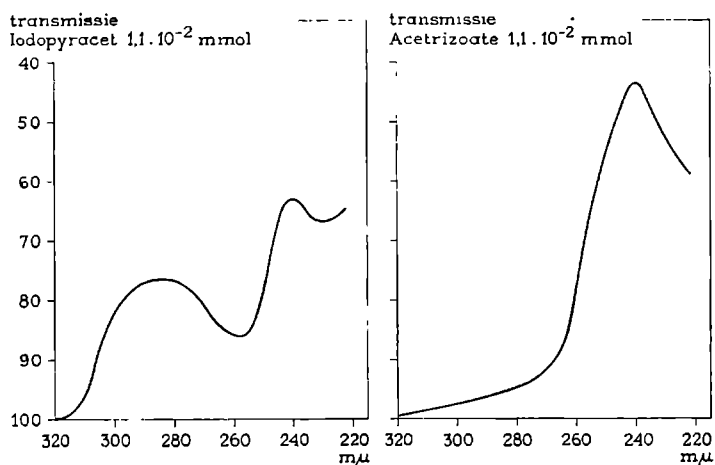
Met een adsorptie aan het membraan behoeft geen rekening te worden gehouden omdat ook bij deze methodiek de concentratie bepaald wordt aan beide kanten van het membraan. De experimenten zijn uitgevoerd bij een pH van 7,4, een temperatuur van 37°C en onder steriele omstandigheden. De betrouwbaarheid van de dialyseplaatmethodiek is getest aan de evenwichts-dialyse.

De dialyseplaat is niet alleen geschikt gebleken voor bepaling van de eiwitbinding *in vitro*, maar ook voor de *in vivo* experimenten waarbij de vrije plasma-

concentratie continu geregistreerd kan worden. Op deze toepassingsmogelijkheid zal in het volgende hoofdstuk nader worden ingegaan.

V. BEPALING VAN DE CONCENTRATIE VAN CONTRASTMIDDELEN

Voor het bepalen van de concentratie van röntgencontrastmiddelen, hebben we gebruik gemaakt van een Beckman DB-spectrofotometer. Alle contrastmiddelen geven een absorptie van het UV-licht. Blijkens de spectra van de door ons gebruikte contrastmiddelen ligt de maximale absorptie bij 237 m μ (figuur 3). Alleen iodopyracet toont daarnaast nog een absorptiepiek bij 280 m μ , hetgeen achteraf een bijzonder gelukkig gegeven zal blijken te zijn.



FIGUUR 3: Spectrum van iodopyracet (Pyelombrine M®) en acetrizoate (Plexombrine®) in UV

FIGURE 3: Spectrum of iodopyracet (Pyelombrine M®) and acetrizoate (Plexombrine®) in UV

Het bepalen van de concentratie van röntgencontrastmiddelen kan ook nog op andere wijzen geschieden.

De meest toegepaste en oudste methodiek is een chemische analyse door middel van een jodiumbepaling na destructie van het organische molecuul. Deze methode is nogal onnauwkeurig en levert een percentagefout op van rond 20% bij lage concentraties.

De laatste jaren wordt in toenemende mate gebruik gemaakt van radioactief gemerkte contrastmiddelen. Men dient wel zoveel mogelijk gebruik te maken

van verse radioactieve stoffen, hetgeen vrij kostbaar kan worden. Bij niet-verse radioactieve stoffen dient men rekening te houden met de aanwezigheid van anorganische jodiden in de oplossing, waarvan de hoeveelheid met de tijd toeneemt door autoradiolyse.

De spectrofotometrische concentratiemeting van röntgencontrastmiddelen is eenvoudig en bijzonder nauwkeurig. Voor het meten van de totale concentratie van een contrastmiddel in het plasma of een albumine-oplossing, wordt de oplossing eerst over twee Sephadex-kolommen geleid. In de eerste kolom, Sephadex G-25-C, ontstaat een scheiding tussen de eiwitten, en het contrastmiddel en aminozuren. Tijdens het doorlopen over de eerste Sephadex-kolom treedt er een volledige dissociatie op van het contrastmiddel-eiwitcomplex. Om aminozuren en andere verbindingen met een basische groep, welke een spectrofotometrische concentratiemeting van contrastmiddelen kunnen verstoren, te verwijderen, wordt het eluaat van de eerste kolom over een SE-Sephadex 25-C-kolom geleid. In het eluaat kan nu de totale concentratie van het contrastmiddel spectrofotometrisch worden bepaald.

Ook voor de vrije concentratie wordt deze Sephadex-kolom gebruikt ter eliminering van bv. aminozuren uit het dialysaat. Voor technische details mag worden verwezen naar een publikatie van Rodrigues de Miranda en medewerkers (1967).

De ontworpen methodiek om de vrije en totale concentratie van een röntgencontrastmiddel te bepalen is in principe bruikbaar voor alle organische verbindingen welke een spectrum hebben in het UV-licht.

VI. EXPERIMENTEEL ONDERZOEK

De *in vitro* bepalingen van binding van röntgencontrastmiddelen aan runderalbumine en aan plasma-eiwitten bij de hond zijn verricht met evenwichtsdialyse. De methode met de dialyseplaat is hier nog niet toegepast, aangezien deze methodiek pas tot ontwikkeling was gekomen, nadat reeds het merendeel van de bepalingen was gedaan met de evenwichtsdialyse. Met het oog op de uniformiteit is de dialyseplaat derhalve niet gebruikt.

1. *Beschrijving van de methodiek*

De evenwichtsdialyse is als volgt uitgevoerd:

Een Visking dialyseslang van 15 cm wordt aan één zijde dichtgeknoopt. In het aldus verkregen zakje wordt 4 ml albumine-oplossing of plasma gedaan, waar-

na de dialyseslang aan de andere zijde eveneens wordt dichtgeknoopt. Het zakje wordt dubbelgevouwen en zodanig in de dialysevloeistof gehangen, dat de dichtgeknoopte uiteinden boven de vloeistof uitsteken.

Als dialysevloeistof is gebruikt 150 ml fosfaat-NaCl-buffer (pH 7,4). Hierin wordt een bepaalde hoeveelheid röntgencontrastmiddel gedaan. De dialysevloeistof, welke zich in een dubbelwandig vaatje bevindt, wordt op een temperatuur van 37°C gehouden en gedurende 24 uur geroerd met een magnetische roerder.

In ieder vaatje bevinden zich twee dialysezakjes voor *in duplo* bepalingen. Na 24 uur worden de zakjes gedroogd, waarna de inhoud wordt opgevangen voor bepaling van de concentratie van het contrastmiddel erin. Ook in de dialysevloeistof wordt de concentratie van het contrastmiddel bepaald. Het gehele onderzoek wordt zo steriel mogelijk verricht.

2. *Binding aan runderalbumine*

De bedoeling van dit onderzoek is geweest een eerste indruk te verkrijgen van de binding van röntgencontrastmiddelen aan albumine. Bij dit oriënterend onderzoek zijn niet alle contrastmiddelen betrokken, maar alleen iodopyracet, acetrizooate, diatrizooate en metrizzooate.

Als albumine is gebruikt het runderalbumine, waarvan een oplossing is gemaakt van 40 g per liter.

Van ieder contrastmiddel zijn meerdere concentraties bij het onderzoek gebruikt.

Van de vier onderzochte röntgencontrastmiddelen toont het acetrizooate de hoogste binding aan albumine. Beneden een concentratie van ongeveer 240 mg per liter wordt meer dan 50% aan albumine gebonden (tabel 1). Bij genoemde concentratie is de procentuele binding van iodopyracet, metrizzooate en diatrizooate respectievelijk ongeveer 35%, 25% en 15%.

Ter betere vergelijking is van de contrastmiddelen een procentuele albumine-bindingscurve uitgezet, met op de ordinaat de procentuele binding en op de abscis de totale concentratie van de contrastmiddelen, uitgedrukt in mmol per liter (figuur 4). Uit deze curven blijkt duidelijk de correlatie tussen de procentuele binding aan albumine en de concentratie van de röntgencontrastmiddelen. Voor berekening van het aantal bindingsplaatsen aan het albuminemolecuul en de associatieconstanten ervan, zijn van twee röntgencontrastmiddelen nog aanvullende bepalingen verricht. Teneinde namelijk een zo betrouwbaar moge-

TABEL 1: *In vitro* bepalingen van de eiwitbinding van enkele contrastmiddelen in 4% runder-albumine

TABLE 1: *In vitro* determinations of the binding of some contrastmedia to bovine albumin (4%)

Contrastmiddel	$\frac{-}{[S]+[PS]}$		$\frac{-}{[S]}$		$\frac{-}{[PS]}$		$\frac{\%}{\text{Binding}}$		r	$\frac{r}{[S]}$	$\frac{r}{[S]}$	$\frac{r}{[S]}$
	mg/l	2 σ	mg/l	2 σ	mg/l	2 σ	%	2 σ				2 σ
Iodopyracet (Pylombrine M®)	1236 624 267 147 69	102 92 32 15,6 17,6	847 433 172 90 43	— 11,2 16 17,6 8,4	389 191 95 57 26	— 93,0 35,8 23,5 19,4	31,4 30,6 35,5 38,9 38,7	3,0 2,9 4,7 7,0 10,1				
Acetrizooate (Plexombrine®)	1662 835 420 243 102	62 28 10,4 15,8 4,8	1074 515 255 122 35	0,6 4,0 1,0 1,2 1,2	588 320 165 120 67	62,0 28,4 10,4 15,8 13,0	35,3 38,3 39,2 49,7 65,5	3,8 3,5 2,4 6,6 3,4	1,750 0,951 0,489 0,358 0,198	0,185 0,083 0,030 0,046 0,038	945 1069 1111 1696 3300	100 94 69 222 653
Diatrizzooate (Urografin®)	1240 603 207 180 62	182 21 12 12 6,9	1130 551 167 136 49	36 15 12 — 0,5	110 52 40 44 13	— 25 17 — 6,9	8,8 8,6 19,3 24,4 20,9	4,7 4,3 8,0 2,6 15,0				
Metrizooate (Isopaque®)	2250 734 142 64 28	34 12,6 1,8 1,2 0,6	1830 558 105 46 17	9 11 1 0,2 0,1	420 176 37 18 11	42 14,9 2,3 1,1 0,7	18,6 22,7 26,1 27,6 38,0	2,0 2,1 2,2 2,0 2,5	1,113 0,465 0,098 0,046 0,027	0,111 0,039 0,006 0,003 0,002	396 541 608 647 1038	39 46 42 50 89

[S]: gemiddelde vrije concentratie van het contrastmiddel;

[PS]: gemiddelde gebonden concentratie van het contrastmiddel;

σ : standaarddeviatie;

r: aantal moleculen van het contrastmiddel per eiwitmolecuul gebonden;

[S]: de niet-gebonden molaire concentratie van het contrastmiddel.

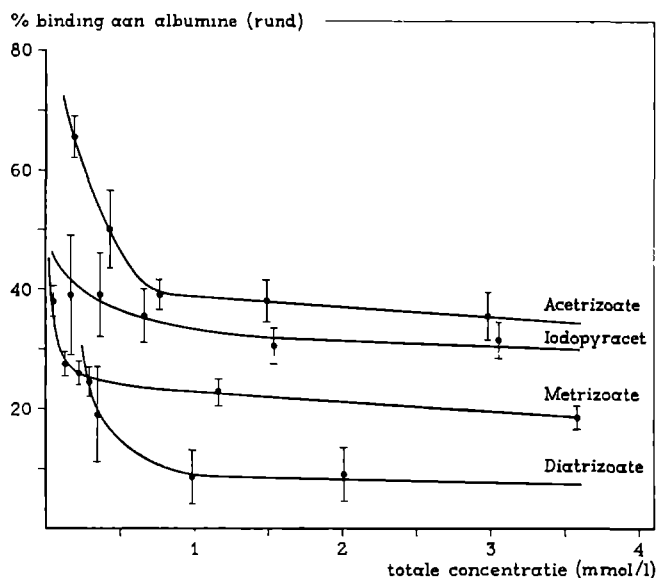
[S]: the mean free concentration of the contrastmedium;

[PS]: the mean bound concentration of the contrastmedium;

σ : standard deviation;

r: number of molecules of the contrastmedium bound per molecule of protein;

[S]: the free molar concentration of the contrastmedium.



FIGUUR 4: Procentuele bindingscurve van iodopyracet (Pyelombrine M®), acetrizoate (Plexombrine®), diatrizoate (Urografin®) en metrizoate (Isopaque®) aan runderalbumine (4 %)

FIGURE 4: Curves representing the percentage binding of iodopyracet (Pyelombrine M®), acetrizoate (Plexombrine®), diatrizoate (Urografin®) and metrizoate (Isopaque®) to bovine albumin (4 %)

lijke standaarddeviatie te kunnen berekenen voor de waarden van $\frac{r}{[S]}$ en r , zijn voor iedere concentratie tenminste zes bepalingen vereist.

De standaarddeviatie (σ) is als volgt berekend:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum x_i^2 - \bar{x} \sum x_i}{n(n-1)}}$$

n is het aantal waarnemingen,

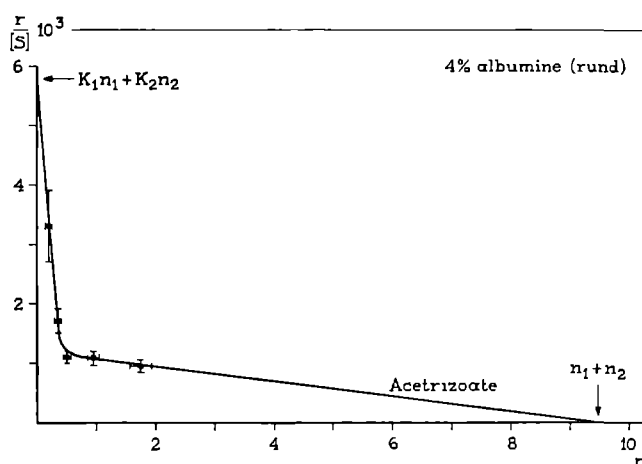
x_i de afzonderlijke waarneming, en

$$\bar{x} \text{ is } \frac{1}{n} \sum x_i$$

Een 96% betrouwbaarheid wordt dan weergegeven door $x \pm 2\sigma$. Dit uitgebreidere onderzoek is verricht met acetrizoate, dat een hoge eiwitbinding toont, en met metrizoate, waarvan de albuminebinding duidelijk lager ligt.

Bij uitzetting van $\frac{r}{[S]}$ tegen r voor acetrizoate wordt voor $n_1 + n_2$, het intercept

op de r -as, een waarde gevonden van 9,5 en voor $K_1n_1 + K_2n_2$, het intercept op de $\frac{r}{[S]}$ -as, een waarde gevonden van $5,8 \cdot 10^3$ (figuur 5). Met gebruikmaking van formule (7) en de experimenteel gevonden stelsels van waarden voor $\frac{r}{[S]}$ en r kunnen n_1 , n_2 , K_1 en K_2 worden berekend. Daarmede is $\frac{r}{[S]} = f(r)$ bepaald. Bij uitzetting van deze functie verkrijgt men een lijn zoals bv. in figuur 5 voor acetrisoate is weergegeven. Voor andere contrastmiddelen is op dezelfde wijze te werk gegaan.

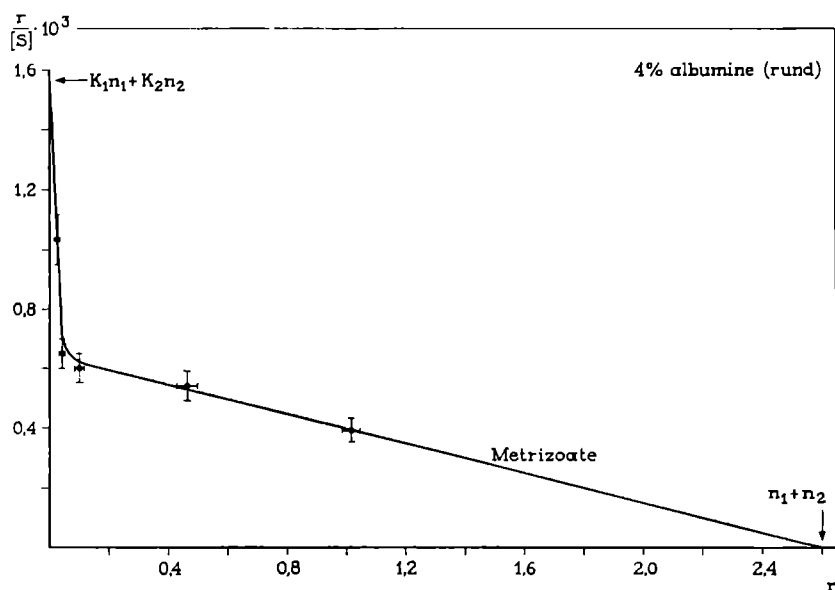


FIGUUR 5: Diagram van acetrisoate (Plexombrine®) bij uitzetting van r tegen $\frac{r}{[S]}$
 FIGURE 5: Diagram of acetrisoate (Plexombrine®) by plotting r against $\frac{r}{[S]}$

Het blijft de vraag of men te maken heeft met twee groepen van bindingsplaatsen op de eiwitmoleculen zonder wederzijdse beïnvloeding, met dus ieder een eigen K -waarde, of dat het misschien zo is dat er een groep van receptoren bestaat waarvan de associatieconstante een functie is van het aantal bezette bindingsplaatsen. De experimentele waarden geven hierover geen uitsluitsel. Voor acetrisoate wordt voor n_1 (0,5) een K_1 gevonden van ongeveer $8 \cdot 10^3$ en voor n_2 (9,0) een K_2 van $1,3 \cdot 10^2$. Dit wil zeggen dat runderalbumine voor acetrisoate een specifieke groep van bindingsplaatsen heeft met een hoge associatieconstante. Bij een onderzoek naar een mogelijk competitieverschijnsel zal deze groep van bindingsplaatsen van essentiële betekenis zijn.

Het vinden van een waarde van n_1 welke kleiner is dan 1 kan verklaard worden door het feit dat er albuminemoleculen zijn waaraan geen plaats meer vrij is voor binding van een substantie. De receptoren kunnen bv. bezet zijn door vetzuren. Overigens moet men de vermelde waarden voor de bindingsplaatsen en de associatieconstanten niet als volkomen exact beschouwen. Het betreft hier slechts een benadering van de verschillende waarden. Het belangrijkste is het grote verschil tussen K_1 en K_2 .

Ook voor metrizoate wordt een specifieke groep van bindingsplaatsen aan het runderalbumine gevonden. n_1 is hier 0,07 met een K_1 van 10^4 , terwijl n_2 ongeveer 2,5 bedraagt met een K_2 van $2,5 \cdot 10^2$ (figuur 6).



FIGUUR 6: Diagram van metrizoate (Isopaque®) bij uitzetting van r tegen $\frac{r}{[S]}$
 FIGURE 6: Diagram of metrizoate (Isopaque®) by plotting r against $\frac{r}{[S]}$

3. Binding aan hondenplasma-eiwitten

De *in vitro* experimenten aan hondenplasma-eiwitten zijn voor de *in vivo* experimenten van meer betekenis dan het onderzoek aan runderalbumine. Het is bij voorbaat al te verwachten dat de procentuele binding aan de plasma-eiwitten lager kan liggen dan bij zuiver albumine. Een deel van de bindingsplaatsen aan

de eiwitmoleculen kan reeds bezet zijn door andere substanties bv. vetzuren. In deze bezetting kan een zekere variabiliteit optreden, zodat een grote spreiding in de waarnemingen mogelijk is bij gebruik van plasma van verschillende honden. Deze spreiding kan nog geaccentueerd worden door een verschil in eiwitgehalte van het plasma. De gemiddelde albumineconcentratie in hondenplasma bedraagt per liter $28 \pm 0,6$ g.

Met de *in vitro* bepalingen is vastgesteld dat diatrizoate, metrizoate, iothalamate en iodamide bij concentraties liggend tussen 200 en 1000 mg per liter nauwelijks aan plasma-eiwitten worden gebonden. De gevonden procentuele binding ligt gemiddeld beneden de 5%.

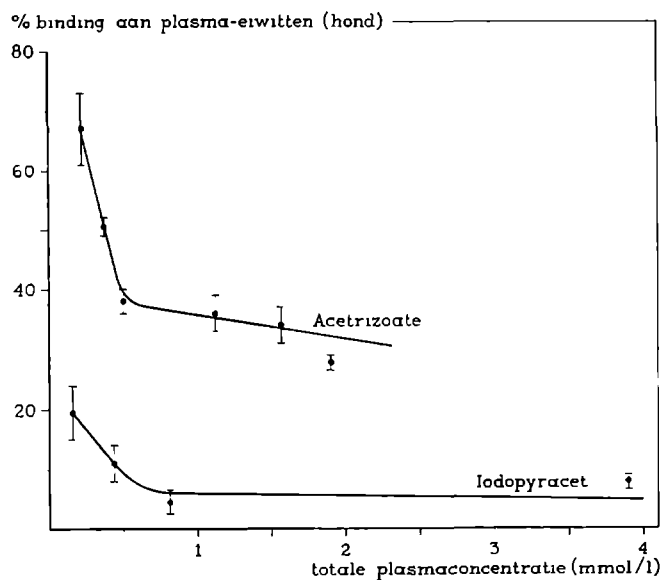
Het iodopyracet toont bij plasmaconcentraties beneden de 300 mg per liter een binding van meer dan 10% (tabel 2). Bij die plasmaconcentraties, waarbij de clearance zal worden bepaald, bedraagt de eiwitbinding ongeveer 5%. Dit is bijzonder laag.

Geheel andere resultaten worden gezien met acetrizoate. Dit röntgencontrastmiddel heeft een hoge eiwitbinding. Bij plasmaconcentraties boven de 500 mg per liter wordt nog een binding gevonden van meer dan 30%. Voor de uitscheiding van dit contrastmiddel door de nier zal dit een nadelige factor zijn voor wat betreft de mogelijkheid tot glomerulaire filtratie.

TABEL 2: *In vitro* bepalingen van de binding van iodopyracet en acetrizoate aan hondenplasma-eiwitten

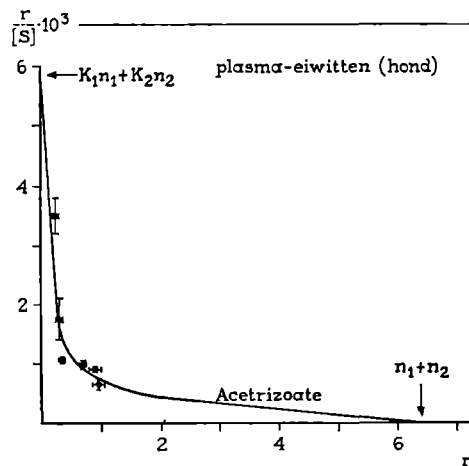
TABLE 2: *In vitro* determinations of the binding of iodopyracet and acetrizoate to plasma proteins of the dog

Contrastmiddel	[S] + [PS]		[S]		[PS]		% Binding		r	2 σ	$\frac{r}{[S]}$		2 σ
	mg/l	2 σ	mg/l	2 σ	mg/l	2 σ	%	2 σ					
Iodopyracet (Pylombrine M®)	2462	172,4	2273	196,2	189	20,0	7,7	0,11	0,543	0,054	14		2
	489	8,5	458	6,1	31	4,4	4,3	2,15	0,060	0,001	78		2
	265	6,0	235	4,9	30	0,9	11,3	2,99	0,086	0,002	219		8
	56	2,4	45	0,8	11	0,5	19,3	4,60	0,031	0,001	407		21
Acetrizoate (Plexombrine®)	1155	12,8	834	42,0	321	6,0	27,8	1,47	0,956	0,065	663		34
	919	22,5	607	28,0	312	11,4	33,9	2,92	0,929	0,072	893		62
	653	9,7	417	13,2	236	16,4	36,1	3,17	0,703	0,046	976		64
	298	9,8	184	6,6	114	11,9	38,0	1,84	0,336	0,036	1053		110
	215	5,8	106	1,4	109	6,0	50,5	1,54	0,322	0,018	1759		495
	127	6,0	42	3,2	85	6,0	67,1	6,04	0,253	0,021	3504		366



FIGUUR 7: Procentuele bindingscurve van iodopyracet (Pyclombrine M®) en acetrizoate (Plexombrine®) aan hondenplasma-eiwitten

FIGURE 7: Curves representing the percentage binding of iodopyracet (Pyclombrine M®) and acetrizoate (Plexombrine®) to plasma proteins of the dog

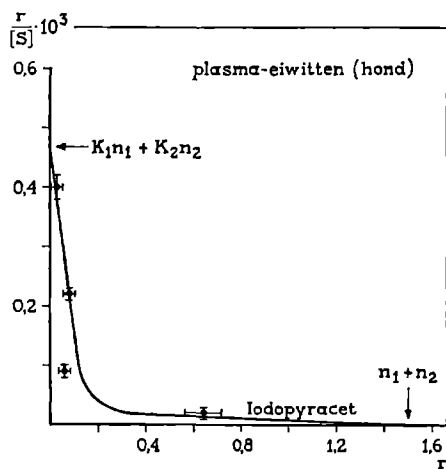


FIGUUR 8: Diagram van acetrizoate (Plexombrine®) bij uitzetting van r tegen $\frac{r}{[S]}$

FIGURE 8: Diagram of acetrizoate (Plexombrine®) by plotting r against $\frac{r}{[S]}$

Van iodopyracet en acetrizate is een procentuele plasma-eiwitbindingscurve opgesteld, waarbij het bindingspercentage weer is uitgezet tegen de concentratie in mmol per liter (figuur 7).

Van acetrizate zijn de waarden voor $\frac{r}{[S]}$ en r weer berekend en in een curve uitgezet (figuur 8). Bij benadering wordt een n_1 van 0,35 gevonden met een K_1 van $1,5 \cdot 10^4$ en een n_2 van 6 met een K_2 van 10^2 . Ook hier wordt weer één specifieke groep van bindingsplaatsen gevonden met een hoge associatieconstante. Voor iodopyracet zijn de gegevens: $n_1 = 0,15$, $K_1 = 3 \cdot 10^3$, $n_2 = 1,5$ en $K_2 = 20$ (figuur 9).



FIGUUR 9: Diagram van iodopyracet (Pyelombrine M®) bij uitzetting van r tegen $\frac{r}{[S]}$

FIGURE 9: Diagram of iodopyracet (Pyelombrine M®) by plotting r against $\frac{r}{[S]}$

SAMENVATTING

Bepalend voor de mate waarin de röntgencontrastmiddelen door de glomeruli kunnen worden gefiltreerd, is de binding ervan aan plasma-eiwitten. De gegevens over de eiwitbinding in de literatuur zijn niet eensluidend en meestal onvolledig. Een procentuele eiwitbindingscurve wordt nergens gevonden.

Uit een theoretische beschouwing over de binding van substanties aan eiwitten is naar voren gekomen, dat een curve kan worden uitgezet, waaruit het aantal bindingsplaatsen (n_1 en n_2) en de associatieconstanten ervan (K_1 en K_2) zijn te berekenen. Deze gegevens kunnen van betekenis zijn voor het competitiever-schijnsel.

Factoren, waarmee rekening moet worden gehouden bij de bepaling van de eiwitbinding zijn: het Donnan-evenwicht, de correctie voor plasmawater, de adsorptie van de substantie aan het membraan, de pH van het milieu, de steriliteit en de temperatuur van het milieu. Die methodiek om de eiwitbinding te bepalen zal de meest betrouwbare zijn, waarbij men genoemde factoren onder controle heeft. De evenwichts-dialyse verdient dan de voorkeur boven de ultrafiltratie en ultracentrifugatie. Een eerste oriënterend onderzoek heeft uitgewezen dat de dialyseplaat ook goede perspectieven opent.

De röntgencontrastmiddelen hebben een spectrum in het UV-licht met een maximale absorptie bij 237 m μ . Het iodopyracet heeft nog een tweede absorptiepiek, namelijk bij 280 m μ . De concentraties van de contrastmiddelen zijn bepaald met de Beckman DB-spectrofotometer.

Bij het onderzoek naar de eiwitbinding representeert de concentratie in het dialysaat de vrije concentratie en de concentratie in de albumine-oplossing of het plasma de totale concentratie.

Als eerste oriënterend onderzoek zijn *in vitro* experimenten verricht met een 4% zuiver runderalbumine-oplossing. Dit onderzoek resulteert in een zeer hoge procentuele albuminebinding van acetrizoate. Beneden een concentratie van 0,5 mmol per liter bedraagt deze ongeveer 50%. Bij deze zelfde concentratie is de procentuele albuminebinding van iodopyracet, metrizoate en diatrizoate respectievelijk 35%, 25% en 15%.

Voor acetrizoate worden twee groepen van bindingsplaatsen (n_1 en n_2) aange-

nomen. De associatieconstante van n_1 (0,5) is ongeveer $8 \cdot 10^3$ en van n_2 (9,0) ongeveer $1,3 \cdot 10^2$. n_1 mag als de meest specifieke groep worden beschouwd.

Voor metrizoate wordt een n_1 gevonden van ongeveer 0,07 met een K_1 van 10^4 en een n_2 van 2,5 met een K_2 van $2,5 \cdot 10^2$. Het aantal bepalingen gedaan met iodopyracet en diatrizoate is te gering geweest om het aantal bindingsplaatsen te kunnen berekenen.

De *in vitro* experimenten met hondenplasma hebben als resultaat opgeleverd, dat de binding aan plasma-eiwitten voor diatrizoate, metrizoate, iothalamate en iodamide bijzonder laag is, namelijk kleiner dan 5%.

Bij hoge plasmaconcentraties is ook de eiwitbinding van iodopyracet laag. Alleen beneden plasmaconcentraties van 0,5 mmol per liter stijgt de plasma-eiwitbinding uit boven de 10%.

Acetrizoate toont een opvallend hoge plasma-eiwitbinding. Zelfs bij hoge plasmaconcentraties ligt de binding boven de 30%. De associatieconstante van n_1 (0,35) is weer hoog, namelijk $1,5 \cdot 10^4$, en voor n_2 (6) in verhouding laag. K_2 is 10^2 . Voor iodopyracet zijn de gegevens: $n_1 = 0,15$, $K_1 = 3 \cdot 10^3$, $n_2 = 1,5$ en $K_2 = 20$.

Resumerend kan worden gesteld dat röntgencontrastmiddelen aan runderalbumine gebonden worden, zij het duidelijk in verschillende mate.

De binding aan hondenplasma-eiwitten is voor de meeste contrastmiddelen uiterst laag. Alleen acetrizoate toont een zeer hoge binding.

The degree of binding of radiopaque agents to plasma proteins influences the rate of excretion by glomerular ultrafiltration. Data on protein binding of these compounds in the literature are contrary and incomplete. The binding sites involved in protein binding of drugs not necessarily are homogenous. Different types of binding sites with different association constants may be involved in the binding of one compound. A theoretical approach to the analysis of the curves representing the relation between drug concentration and protein binding, resulting in an estimation of the numbers of various binding sites, n_1 and n_2 , and their association constants, K_1 and K_2 is given. Such an analysis may be of special significance in the study of competition phenomena. In the experimental analysis of protein binding of drugs a number of factors has to be accounted with, such as Donnan equilibrium, corrections for the plasma-water volume available as solvent for the compound, pH of the solvent, temperature, the adsorption of the drug to membranes used in the experiments and the sterility of the media because of possible protein break-down. It was concluded that equilibrium dialysis is the method of preference over the ultrafiltration and ultracentrifugation. Also a method based on the use of dialysis plate studies in a tentative way opens good perspectives. The determination of the concentration of the contrast media is based on their absorption in the ultraviolet part of the spectrum with a maximum at 237 m μ (figure 3). A series of experiments was performed with 4% solutions of purified bovine albumin. Especially the radiopaque agent acetrizoate showed a high degree of protein binding (table 1). At concentrations below 0,5 mmol/l it is about 50% (figure 4). At the same concentration the binding percentages for iodopyracet, metrizoate and diatrizoate are 35%, 25% and 15% respectively. For acetrizoate two types of binding sites were found with values of n_1 is 0,5 and an association constant K_1 is $8 \cdot 10^3$ and n_2 is 9,0 with an association constant K_2 is $1,3 \cdot 10^2$. The binding sites indicated as n_1 can be considered as the most specific ones. For metrizoate the respective values measured are n_1 is 0,7 and K_1 is 10^4 and n_2 is 2,5 and K_2 is $2,5 \cdot 10^2$.

In vitro experiments with dog plasma showed that for diatrizoate, iothalamate

and iodamide protein binding is very low, smaller than 5 %. At high plasma concentrations the protein binding of iodopyracet too is relatively low (table 2). At plasma concentrations below 0,5 mmol/l it reaches values of 10 % and more (figure 7). Acetrizoate shows a high degree of plasma protein binding; even at high plasma concentrations it still surpasses the 30 % value. For this compound again two types of binding sites could be differentiated with values of n_1 is 0.4 and K_1 is $2 \cdot 10^4$ and n_2 is 5.7 and K_2 is $2 \cdot 10^2$. Summarizing it can be concluded that, as expected, protein binding of the radiopaque agents studied differs for the various compounds. Especially for acetrizoate a very high degree of binding is observed.

LITERATUUR

- BLOCK, J. B., D. E. GRAHAM en B. A. BURROWS: J. Clin. Invest. 1959, 38, 988.
BRAUN, W., I. HESSE en G. MALORNY: Arch. exp. Path. Pharmacol. 1963, 245, 457.
BULL, H. B.: Phys. Biochem. 1951.
- DAVISON, C. en P. K. SMITH: J. Pharmacol. exp. Ther. 1961, 133, 161.
- GLOXHUBER, CHR.: Röntgenblätter 1965, 18, 479.
GOLDBAUM, L. R. en P. K. SMITH: J. Pharmacol. exp. Ther. 1954, 111, 197.
- KARUSH, F.: J. Am. Chem. Soc. 1950, 72, 2705.
KLOTZ, I. M.: Arch. Biochem. 1946, 9, 109.
KUTT, K. en F. MCDOWELL: Fed. Proc. 1960, 19, 73.
KUTT, K. en F. MCDOWELL: J. Lab. Clin. Med. 1962, 59, 118.
- LANGECKER, H., A. HARWART en K. JUNKMANN: Arch. exp. Path. Pharmacol. 1953, 220, 195.
LANGECKER, H., A. HARWART en K. JUNKMANN: Arch. exp. Path. Pharmacol. 1954, 222, 584.
LASSER, E. C., S. H. LEE, E. FISHER en B. FISHER: Radiol. 1962a, 78, 240.
LASSER, E. C., R. S. FARR, T. FUJIMAGARI en W. N. TRIPP: Am. J. Roentgen. 1962b, 87, 338.
- MCLEAN, F. C. en A. B. HASTINGS: J. Biol. Chem. 1935, 108, 285.
MCMENAMY, R. H. en J. L. ONCLEY: J. Biol. Chem. 1958, 233, 1436.
- OS, G. A. J. VAN: Pharm. Weekblad 1960, 95, 854.
- RODRIGUES DE MIRANDA, J. K.: J. Pharm. Pharmacol. 1967, 19, 161.
- SCATCHARD, G.: Ann. N.Y. Acad. Sc. 1949, 51, 660.
SCATCHARD, G., I. H. SCHEINBERG en S. H. ARMSTRONG JR.: J. Am. Chem. Soc. 1950, 72, 535.
SCHLUNGBAUM, W.: Fortschr. Röntgenstr. 1962, 96, 795.
SCHOLTAN, W.: Makromolekulare Chem. 1962, 54, 24.
SMITH, W. en H. A. RANGES: Am. J. Physiol. 1938, 123, 720.

FARMACOKINETISCHE ANALYSE VAN DE ELIMINATIE
VAN NIERCONTRASTMIDDELEN

INLEIDING

In het vorige hoofdstuk is reeds gewezen op de mogelijkheid om de dialyseplaat te gebruiken bij de bepaling van de vrije plasmaconcentratie van röntgencontrastmiddelen bij de *in vivo* experimenten met honden. Door de dialyseplaat aan te sluiten op de arteria en vena femoralis van de hond kan de vrije plasmaconcentratie van het contrastmiddel continu worden geregistreerd. In hoofdstuk VI zullen de technische gegevens nader worden besproken.

Uit de uitscheidingscurve en de plasmaconcentratiecurve kan op ieder tijdstip de clearance van een contrastmiddel worden berekend. Uit de plasmaconcentratiecurve kunnen ook nog andere informatieën worden verkregen. Na intraveneuze injectie van het contrastmiddel wordt een bepaald verloop van de plasmaconcentratiecurve van het vrije contrastmiddel verkregen, of in geval er geen eiwitbinding optreedt, van de totale plasmaconcentratie. De beginconcentratie van het contrastmiddel in het plasma daalt aanvankelijk snel doch neemt daarna minder steil af. Aan de hand van een dergelijke curve, ook wel verdwijningscurve van een substantie genoemd, blijkt het mogelijk enig inzicht te verkrijgen over de verdeling van een stof over het organisme. Dat deel van de curve waarin de plasmaconcentratie snel daalt, geeft niet alleen informatie over de snelheid van uitscheiding van het contrastmiddel uit het organisme, maar ook over de snelheid van verdwijning van de stof vanuit het plasma naar organen of orgaansystemen. Hoe minder een substantie zich over de weefsels verdeelt, des te geringer zal de kans zijn dat de stof een farmacologische werking ontplooit. Voor de niercontrastmiddelen zal het derhalve belangrijk zijn dat de weefselconcentratie ervan laag is, omdat een van de eisen die aan een contrastmiddel worden gesteld is een lage farmacologische activiteit.

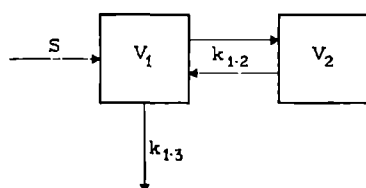
Wanneer een stof zich voor een deel in de intracellulaire ruimte bevindt, zal, nadat op een bepaald moment een kortdurend evenwicht is bereikt tussen de

intracellulaire en de extracellulaire ruimte, bij daling van de concentratie van een stof in de extracellulaire ruimte door uitscheiding van de stof uit het organisme door bv. de nieren, een nalevering plaatsvinden vanuit de intracellulaire ruimte.

Het voordeel van onze registratiemethodiek is dat thans een volledige plasmaconcentratiecurve is verkregen, terwijl men tot nu toe de plasmaconcentratiecurve van een substantie moest samenstellen uit enkele plasmaconcentraties van deze stof, verkregen met zo snel mogelijk achter elkaar genomen bloedmonsters, waarbij het snel dalende gedeelte van de curve toch nog moeilijk is te construeren. Met radioactief gemerkte stoffen zijn de mogelijkheden weer beter.

II. THEORETISCHE BESCHOUWING

De afneming van de vrije plasmaconcentratie van een stof verloopt in het eenvoudigste geval exponentieel met de tijd. De logaritme van de plasmaconcentratie als functie van de tijd zal in dit geval rechtlijnig zijn. Vaak echter wordt een samengestelde exponentiële curve gevonden (Peterson c.s. 1956, Rowland c.s. 1967 en Sapirstein c.s. 1955). Dit kan men verklaren met aan te nemen dat de stof zich niet alleen verdeelt over de intravasale ruimte maar ook over de extracellulaire ruimte en eventueel over de intracellulaire ruimte. Dit laatste wordt o.a. bepaald door de lipoïdoplosbaarheid van de stof (Brodie c.s. 1957), welke bv. voor de niercontrastmiddelen laag is (hoofdstuk VI). Voor een dergelijk proces is een model op te stellen zoals door Sapirstein en medewerkers (1955) is weergegeven. Naar analogie hiervan worden twee compartimenten



FIGUUR 1: Schematische weergave van een twee-compartimentensysteem: V_1 is de intravasale ruimte, V_2 de extracellulaire ruimte, $k_{1.2}$ de clearanceconstante voor V_1 naar V_2 en $k_{1.3}$ is de uitscheidingsclearance. S is de intraveneus gegeven dosis van een substantie.

FIGURE 1: Schematic representation of a two compartment system: V_1 (intravasal space) and V_2 (extracellular space). $k_{1.2}$ is the intercompartmental clearance constant and $k_{1.3}$ is the excretion clearance constant. S is the amount of the substance injected in V_1 .

aangenomen, V_1 en V_2 , welke respectievelijk de intravasale en extracellulaire ruimte vertegenwoordigen (figuur 1). Om met dit model op eenvoudige wijze te kunnen werken moet eerst aan bepaalde voorwaarden worden voldaan. Na injectie van een substantie in de bloedbaan moet deze zich homogeen verdelen over de intravasale ruimte en eventueel over de extracellulaire ruimte met een snelheid welke hoog is vergeleken met de eliminatiesnelheid uit dit compartiment. Voor wat betreft de uitscheiding van de stof uit het organisme moeten V_1 en V_2 als het ware in serie staan, d.w.z. de concentratieafneming in V_2 mag alleen plaatsvinden naar V_1 , zodat de snelheid van uitscheiding uit het organisme evenredig is met de concentratie van de stof in V_1 . Voor stoffen dus welke bv. via de lever of mogelijk door de nier via een actief tubulair proces worden uitgescheiden is genoemd model niet meer bruikbaar. De snelheid van uitwisseling tussen V_1 en V_2 is afhankelijk van het concentratieverschil tussen deze compartimenten. Tenslotte moet worden aangenomen dat van de substantie geen metabolisme optreedt en de clearance van de stof gedurende het gehele onderzoek constant is. Het zal duidelijk zijn dat aan al deze voorwaarden in feite niet altijd zal worden voldaan en dat de situatie doorgaans veel complexer is dan met het gegeven model overeenkomt.

Uit het eenvoudige model kan, naar het voorbeeld van Sapirstein en medewerkers (1955), de volgende algemene formule ontwikkeld worden:

$$[S]_t = L_1 e^{-\frac{t}{\tau_1}} + L_2 e^{-\frac{t}{\tau_2}} \quad (1)$$

Hierin is:

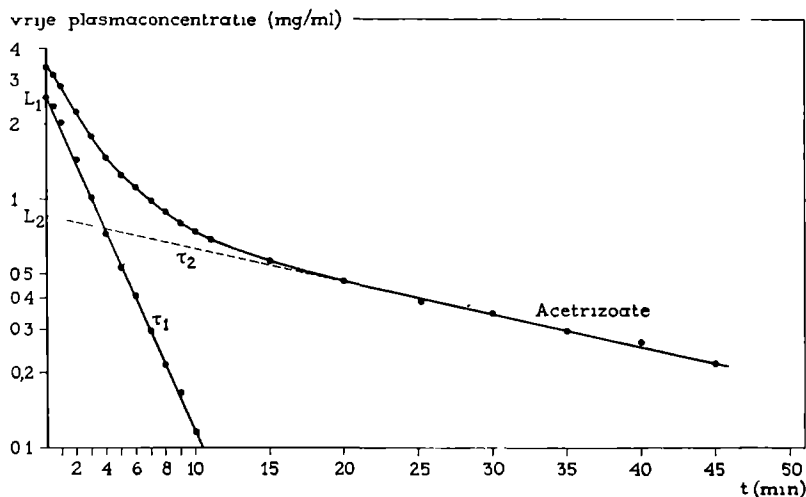
$[S]_t$ de vrije plasmaconcentratie van de substantie, op ieder tijdstip t .

L_1 en L_2 de constanten, welke afhangen van de toegediende dosis en de verdelingsruimten, en

τ_1 en τ_2 de tijdsconstanten, welke de snelheid van het eliminatieproces bepalen.

Er zijn twee tijdsconstanten en derhalve zullen er twee halfwaardetijden zijn, waaruit de tijdsconstanten te berekenen zijn. De halfwaardetijd is die tijd waarin de concentratie van een substantie in het compartiment tot de helft is afgenomen en welke kleiner is dan de tijdsconstante ($t_{1/2} = 0,693\tau$).

De halfwaardetijd welke met τ_2 samenhangt is uit de helling van het vlakste deel van de plasmaconcentratiecurve door extrapolatie te bepalen. Het intercept van deze lijn op de ordinaat geeft de waarde van L_2 (figuur 2). De tijdsconstante τ_1 kan bepaald worden door de geëxtrapoleerde curve van de totale plasmacurve



FIGUUR 2: Curve van de vrije plasmaconcentratie van acetrizoate (Plexombrine®) bij een hond, 18 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie. Dosering: acetrizoate 200 mg/kg.

FIGURE 2: The free plasma concentration curve of acetrizoate (Plexombrine®) at a dog, 18 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.) The dosage of acetrizoate is 200 mg/kg

Note: τ_1 and τ_2 are time constants. L_1 and L_2 are constants depending on the given dosis and the distribution volumes, and are determined by the intercept of τ_1 and τ_2 on the ordinate.

af te trekken. Wanneer nu een rechte lijn wordt verkregen, welke overigens steiler loopt dan de eerste vlakke curve, kan de halfwaardetijd welke met τ_1 samenhangt berekend worden en daarmee τ_1 . Het intercept van deze lijn op de ordinaat geeft dan de waarde voor L_1 (figuur 2).

In formule 1 is:

$$\tau_1 \cdot \tau_2 = \frac{V_1 \cdot V_2}{k_{1.2} \cdot k_{1.3}} \quad (2)$$

Hierin is $k_{1.2}$ de clearanceconstante voor V_1 naar V_2 , en $k_{1.3}$ de clearanceconstante voor V_1 ofwel de uitscheidingsclearance.

Anderzijds is:

$$\frac{1}{\tau_1} + \frac{1}{\tau_2} = \frac{k_{1.3} + k_{1.2}}{V_1} + \frac{k_{1.2}}{V_2}$$

Uit deze formules zijn de volgende vergelijkingen afgeleid (Sapirstein c.s. 1955):

$$V_1 = \frac{S}{L_1 + L_2}$$

en

$$k_{1.3} = \frac{S}{L_1\tau_1 + L_2\tau_2}$$

en

$$k_{1.2} = \frac{V_1}{L_1 + L_2} \left(\frac{L_1}{\tau_1} + \frac{L_2}{\tau_2} \right) - k_{1.3}$$

en

$$V_2 = \frac{k_{1.2} \cdot k_{1.3} \cdot \tau_1 \cdot \tau_2}{V_1}$$

S is de intraveneus gegeven dosis van de substantie.

Met behulp van deze formules en de experimentele curven zijn de verdelingsruimten en de clearancewaarden te benaderen.

III. EXPERIMENTEEL ONDERZOEK

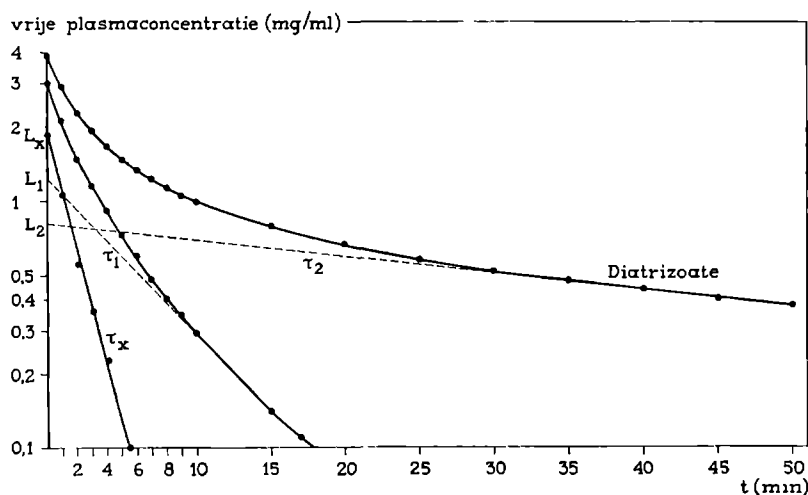
Het is duidelijk dat voor één contrastmiddel de tijd-concentratiecurve van de vrije vorm in het plasma voor verschillende honden zal variëren. Er kunnen grote individuele verschillen bestaan in de clearance van de stof, de volumina van de verdelingsruimten en de toestand van de verschillende organen waarheen de stof kan diffunderen. Deze verschillen zullen ook tot uiting komen in het verloop van de curven, afgeleid van de plasmaconcentratiecurven. Daarmede kan een zekere variabiliteit optreden in de af te leiden waarden voor τ en L voor hetzelfde contrastmiddel bij verschillende honden. Bij de meeste contrastmiddelen blijkt dat de curve, verkregen door het vlakste deel van de curve van de totale curve af te trekken, geen rechte lijn is maar weer een kromme (figuur 3). Hierdoor ontstaat er een bijzonder complexe situatie. Het ziet er naar uit dat er geen twee maar drie verdelingsruimten bestaan. Men zou hierbij kunnen aannemen dat naast het extracellulaire compartiment ook een intracellulair compartiment een rol speelt. De sterke hydrofiliteit van de contrastmiddelen pleit echter hiertegen. Meer aannemelijk is de mogelijkheid dat de homogene verdeling van de contrastmiddelen over de extracellulaire ruimte niet snel verloopt maar dat hiervoor toch een zekere tijd nodig is. De algemene op-

vatting is dat de extracellulaire ruimte onderscheiden kan worden in twee compartimenten met een duidelijk verschil in diffusiesnelheid (Mertz 1962).

De tijdsconstante voor het derde door ons gevonden 'compartiment', welke τ_x is genoemd, is vrij klein (tabel 1). Ter vereenvoudiging is deze tijdsconstante buiten beschouwing gelaten en hebben we ons beperkt tot het model, zoals in het theoretische gedeelte is weergegeven.

In tabel 2 zijn de gegevens van de contrastmiddelen opgenomen zoals verkregen uit de constanten uit tabel 1, voor zover deze ontleend zijn aan de plasmaconcentratiecurve, en de vermelde formules voor V_1 , V_2 , $k_{1.2}$ en $k_{1.3}$. Het betreft hier telkens 2 experimenten per contrastmiddel, waarbij, om tot een betere vergelijking te komen, alle waarden zijn omgerekend naar een hond van 15 kg.

Alvorens tot een bespreking te komen van de in tabel 2 samengevatte gegevens moet worden opgemerkt dat per contrastmiddel slechts twee plasmaconcentratiecurven in de berekeningen zijn betrokken, een aantal dat, gezien de



FIGUUR 3: Curve van de vrije plasmaconcentratie van diatrizoate (Urografin®) bij een hond, 25 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Dosering: diatrizoate 200 mg/kg.

Opmerking: er blijkt hier sprake te zijn van drie verdelingsruimten.

FIGURE 3: The free plasma concentration curve of diatrizoate (Urografin®) at a dog, 25 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

The dosage of diatrizoate is 200 mg/kg.

Note: there are found three compartments.

TABEL 1: Overzicht van de verschillende constanten van enkele contrastmiddelen.

Opmerking: De opgegeven clearance van de contrastmiddelen is de gemiddelde vrije clearance voor één nier. Bij de opgegeven clearancewaarden voor iodopyracet en acetrisoate dient men zich te realiseren dat deze stoffen actief tubulair worden uitgescheiden en een eiwitbinding vertonen.

TABLE 1: Data of the various constants for some renal contrastmedia.

Note: for the explanation of the symbols see figure 2. The clearance of the contrastmedia is the mean clearance of the free plasma concentration for one kidney. It has to be noted that iodopyracet and acetrisoate are actively excreted by the tubules and are bound on plasma proteins.

Contrastmiddel	Hond no.	Ge- wicht kg	τ_x min	τ_1 min	τ_2 min	L_x mg/l	L_1 mg/l	L_2 mg/l	Clea- rance ml/min	Creati- nine clea- rance ml/min
Iodopyracet	783	27		10,1	43,9		550	720	76,9	20,1
(Pyelombrine M®)	822	20		10,8	48,9		535	405	64,1	24,8
Acetrisoate	781	16,5	2,0	9,2	46,8	870	445	360	38,5	18,9
(Plexombrine®)	7111	14	1,5	5,3	35,3	1490	1175	600	34,5	26,2
Diatrisoate	751	18		2,9	30,9		1275	825	23,5	23,5
(Urografin®)	753	25	1,9	7,0	64,0	1830	1220	810	22,9	22,3
Metrisoate	792	17	1,1	11,1	164,0	570	540	317	14,9	14,9
(Isopaque®)	793	21	1,1	6,3	60,6	950	1460	630	36,3	32,3
Iothalamate	7102	24	1,2	6,2	66,2	2300	1600	780	20,0	20,5
(Conray®)	7101	21	2,3	6,5	51,8	1500	1830	1160	21,9	21,9
Iodamide	610	14	1,1	7,2	64,5	1250	600	570	13,1	11,9
(Urombrine®)	730	14	1,8	7,6	109,0	1075	885	530	14,5	13,4

TABEL 2: Opmerking: in de laatste kolom staat de gemiddelde clearance van de contrastmiddelen voor beide nieren gevonden bij de hondenexperimenten en berekend voor honden van 15 kg.

TABLE 2: Note: for the explanation of the symbols see figure 1. The last column represents the mean clearance of the contrastmedia for both kidneys, found at the experiments with dogs and calculated for dogs of 15 kg.

Contrastmiddel	V_1 L	$k_{1,3}$ ml/min	V_2 L	$k_{1,2}$ ml/min	Verde- lings- volume %	Clearance ml/min
Iodopyracet	2,350	80	1,438	950	35,1	81
(Pyelombrine M®)	3,200	117	3,567	1800		96
Acetrisoate	3,730	154	1,887	115	28,7	69
(Plexombrine®)	1,690	110	1,305	115		72
Diatrisoate	1,420	104	1,432	214	22,1	39
(Urografin®)	1,480	50	2,294	333		27
Metrisoate	1,430	65	1,618	100	21,0	26
(Isopaque®)	1,250	51	2,004	70		50
Iothalamate	1,390	49	1,335	95	15,5	25
(Conray®)	1,010	42	0,719	56		30
Iodamide	2,564	72	1,326	113	26,2	28
(Urombrine®)	2,050	50	2,920	134		30

mogelijke spreiding die kan optreden, te gering is voor vergaande conclusies. Bovendien is het gehanteerde model een sterke simplificatie van de werkelijke situatie, zodat de verkregen gegevens met een zekere reserve moeten worden bekeken. Ondanks genoemde beperkingen komen toch enkele karakteristieke kwalitatieve verschillen in de gebruikte contrastmiddelen, zoals deze uit de toxiciteit (hoofdstuk II), het eiwitbindingsonderzoek (hoofdstuk IV) en het clearance-onderzoek (hoofdstuk VI) zijn gebleken, duidelijk tot uiting. Zo kan worden opgemerkt dat iodopyracet en acetrizolate de hoogst berekende clearancewaarden hebben. De $k_{1,3}$ -waarden, zoals berekend uit de vrije plasmaconcentratiecurven, liggen duidelijk hoger dan die van de overige contrastmiddelen. Een eventueel optredende eiwitbinding van een contrastmiddel moet tot uiting komen in een grotere waarde voor V_1 , aangezien de volumina betrokken zijn bij de vrije plasmaconcentratie. Iodopyracet en acetrizolate worden beiden, weliswaar in verschillende mate, gebonden aan plasma-eiwitten bij de hond. Het is opmerkelijk dat juist bij deze stoffen relatief hoge waarden voor V_1 zijn waargenomen. Het verdelingsvolume ($V_1 + V_2$: het lichaamsgewicht), uitgedrukt in percenten van het totale volume, levert in het bijzonder voor iodopyracet een hoge waarde op. De door ons gevonden verdelingsvolumina voor acetrizolate en diatrizolate zijn in dezelfde orde van grootte als de door Langecker en medewerkers (1953, 1954) opgegeven waarden. Uitbreiding van het onderzoek is nodig om tot meer definitieve uitspraken te komen.

Het verdelingsvolume van plasmawater bij de hond ligt in de orde van $\frac{1}{2}$ liter. Dit betekent dat ook van de andere röntgencontrastmiddelen het verdelingsvolume V_1 groter is dan de intravasale ruimte. Dit kan betekenen dat het verdelingsvolume V_1 niet uitsluitend betrekking heeft op de intravasale ruimte, maar dat de extracellulaire ruimten van die delen van het organisme, welke zeer snel met het bloed uitwisselen, hier tevens bij betrokken zijn. Zoals reeds tevoren gesteld, is bij de berekening uitgegaan van een 2-compartimentensysteem, terwijl voor sommige röntgencontrastmiddelen een 3-compartimentensysteem moet worden aangenomen (tabel 1). Een stof die intracellulair wordt opgenomen, zal, gezien het feit dat hiervoor in het gebruikte model geen ruimte voor gegeven is, een duidelijk hogere waarde voor $k_{1,2}$ en V_2 moeten tonen. Voor iodopyracet, het contrastmiddel met de hoogste toxiciteit, liggen de waarden voor $k_{1,2}$ en V_2 hoger dan voor de andere contrastmiddelen. Dit contrastmiddel onderscheidt zich bovendien van de overige contrastmiddelen in een hoge tubulaire uitscheiding en enige uitscheiding door de lever (Denneberg c.s. 1960). Dit laatste is ook van acetrizolate vermeld (Porporis c.s. 1954).

SAMENVATTING

Aan de hand van continu geregistreerde plasmaconcentratiecurven is het mogelijk enig inzicht te verkrijgen over de verdeling van röntgencontrastmiddelen over het organisme. Door uit te gaan van een model dat twee verdelingsruimten omvat, kunnen formules worden ontwikkeld waaruit de verdelingsruimten (V_1 en V_2) en de clearanceconstanten ($k_{1.2}$ en $k_{1.3}$) zijn te berekenen. Uit de plasmaconcentratiecurve zijn de verschillende constanten, waaronder de tijdsconstanten, af te leiden.

Voor de meeste contrastmiddelen is gebleken dat er drie verdelingsruimten zijn. Er kan sprake zijn van een extracellulaire ruimte en twee intracellulaire ruimten met verschillende uitwisselingssnelheden. De sterke hydrofiliteit van de contrastmiddelen pleit echter hiertegen. Men kan dan ook veronderstellen dat de homogene verdeling over de extracellulaire ruimte een zekere tijd nodig heeft, waarbij de extracellulaire ruimte uit twee compartimenten bestaat.

Iodopyracet en acetrizoate tonen een hoge clearancewaarde ($k_{1.3}$), terwijl de hoge waarden voor V_1 voor deze contrastmiddelen verband kan houden met de binding van deze stoffen aan hondenplasma-eiwitten.

Het verdelingsvolume voor iodopyracet en acetrizoate is groter dan van de andere contrastmiddelen.

Er moet worden opgemerkt dat het aantal waarnemingen te gering is om tot een definitieve eindconclusie te komen. Het aantal factoren dat een zekere variabiliteit vertoont en welke van invloed zijn op de verdeling van een stof over het organisme kan groot zijn. Bovendien komt het gehanteerde model niet overeen met de werkelijke situatie, zodat de gegevens met een zekere reserve moeten worden bekeken.

With the continuous registered curves of the free plasma concentration of radiopaque agents it seems possible to get some insight into the distribution of the compounds in the organism. It is assumed that there are two compartments, V_1 and V_2 , representing the intravascular and the extracellular space (figure 1). With this assumption some equations are derived by which the volumes of distribution of the compounds and the glomerular filtration rate ($k_{1.3}$) and the intercompartmental clearance ($k_{1.2}$) can be calculated. By plotting the plasma concentration of a substance semilogarithmically against time, some constants, such as the time constants, can be derived from the curve obtained in this way (figure 2).

With nearly all radiopaque agents a system seems to be involved composed of three compartments (figure 3). It is possible that there are one extracellular space and two intracellular spaces with different rates of exchange. This is, however, irreconcilable with the strong hydrophilicity of the contrastmedia. It seems more probable that the homogeneous distribution of a compound through the extracellular space is not so fast. In this case it is assumed that there exist two extracellular compartments with a different rate of exchange. The disappearance rate of the radiopaque agents into the extracellular space is greater than the elimination rate (table 2). The volume of distribution of iodopyracet and acetrizoate is greater than for the other contrastmedia. Radiopaque agents, like iodopyracet and acetrizoate show a high value for V_1 , due to their high protein binding.

It has to be noted that the number of observations is too low to get a good appreciation.

LITERATUUR

BRODIE, B. B. en C. A. M. HOGBEN: J. Pharm. Pharmacol. 1957, 9, 345.

DENNEBERG, T., E. HAUSSON en I. HEDENSKOG: Acta Med. Scand. 1960, 166, 351.

LANGECKER, H., A. HARWART en K. JUNKMANN: Arch. exper. Path. & Pharmacol. 1953, 220, 195.

LANGECKER, H., A. HARWART en K. JUNKMANN: Arch. exper. Path. & Pharmacol. 1954, 222, 584.

MERTZ, D. P.: Biochemie und Klinik, Die Extracelluläre Flüssigkeit, 1962, hoofdst. II.

PETERSON, R. E. en J. B. WIJNGAARDEN: J. Clin. Invest. 1956, 35, 552.

PORPORIS, A. A., G. V. ELLIOTT, G. J. FISCHER en C. B. MUELLER: Am. J. Roentgen. 1954, 72, 995.

ROWLAND, M., S. RIEGELMAN, P. A. HARRIS, S. D. STOLHOFF en E. J. EYRING: Nature 1967, 215, 413.

SAPIRSTEIN, L. A., D. G. VIDT, M. J. MANDEL en G. HANUSEK: Am. J. Physiol. 1955, 181, 330.

EXPERIMENTEEL ONDERZOEK NAAR DE UITSCHIEDING VAN NIERCONTRASTMIDDELEN

I. INLEIDING

Bij het experimentele onderzoek is van twee methoden gebruik gemaakt om een inzicht te krijgen in de wijze waarop röntgencontrastmiddelen door de nier worden uitgescheiden. Enerzijds is de zogenaamde 'stop-flow' methode toegepast en anderzijds is de clearance van de röntgencontrastmiddelen bepaald tegelijk met de creatinineclearance.

De stop-flow methode geeft een kwalitatief beeld van de tubulaire excretieprocessen, terwijl daarbij grof kwantitatieve informatie over de uitscheidingsprocessen verkregen kan worden. Het competitieverschijnsel bij het actieve tubulaire transport is ook met behulp van de stop-flow aan te tonen.

De clearancebepalingen bij onze proefdieren zijn gedaan ter verificatie van de gegevens verkregen uit de stop-flow proeven en ter vaststelling van het tubulaire maximum van die röntgencontrastmiddelen, die door de tubuli actief worden uitgescheiden. Voor het verkrijgen van inlichtingen omtrent de invloed van de pH van de urine kunnen wij van de clearanceproeven weinig succes verwachten. Om veranderingen aan te brengen in de pH van de urine kan men, al naar gelang de beoogde verandering, bv. Na_2SO_4 of NaHCO_3 geven. Dit zal echter steeds gepaard gaan met een verhoging van de urineproductie. Een verandering van de urineflow op zich heeft reeds invloed op de mate van tubulaire terugdiffusie van substanties, zodat een mogelijk effect van de urine-pH dat niet of moeilijk geduid kan worden.

Geheel anders ligt dit bij de stop-flow methode, waar de stilstand van de urine-stroom in het tubulustlumen de mogelijkheid tot evenwichtinstelling bevordert. Ter bepaling van de grootte van het actieve tubulaire transport van een röntgencontrastmiddel dient men van de totaal uitgescheiden hoeveelheid substantie die fractie te weten welke door de glomeruli gefiltreerd is. Om dit te kunnen berekenen moet eveneens de creatinineclearance bekend zijn.

Voor de uitscheiding van de contrastmiddelen door de nier zijn de volgende gegevens van belang:

1. de urine-pH,
2. de urineproduktie,
3. de concentratie van het contrastmiddel in de urine,
4. de concentratie van creatinine in de urine,
5. de totale concentratie van het contrastmiddel in het plasma,
6. de plasmaconcentratie van het vrije contrastmiddel, en
7. de concentratie van creatinine in het plasma.

Getracht is alle gegevens zoveel mogelijk continu te registreren. Dit is gerealiseerd voor de meting van de urine-pH en de urineproduktie, alsmede voor de spectrofotometrische bepaling van de concentratie van creatinine en van het röntgencontrastmiddel in de urine. Voorts is het mogelijk gebleken de vrije concentratie van het röntgencontrastmiddel in het plasma continu te registreren. Er is uiteindelijk een methodiek ontwikkeld geschikt voor iedere stof welke door de nier wordt uitgescheiden mits de concentratie ervan spectrofotometrisch kan worden bepaald.

II. METHODIEK

1. *Proefdier en preparatietechniek*

De meeste experimenten, gericht op de uitscheiding van organische substanties door de nier, worden gedaan bij honden, omdat deze qua nierfysiologie vrij dicht bij de mens staan (Kessler 1962). De transportmechanismen waarover de nier van de mens beschikt, zijn bij de hond terug te vinden. We hebben wel de indruk dat de glomerulaire filtratie bij de hond hoger is dan bij de mens. In de literatuur vindt men voor de hond een glomerulaire filtratie van ongeveer 1,6 ml per kg lichaamsgewicht per minuut per nier, terwijl deze voor de mens ligt bij ongeveer 0,9 ml. Dit verschil komt zowel bij de inuline- als de creatinineclearance tot uiting en moet wellicht gezocht worden in een in verhouding groter filtrerend oppervlak bij de nier van de hond.

Voor al onze proeven zijn teven gebruikt met een gewicht variërend van 12 tot 24 kg.

De honden worden onder narcose gebracht met behulp van een mengsel van fluothane en lachgas. Wanneer het proefdier voldoende diep onder narcose is, wordt het geïntubeerd en met voornoemd narcosemengsel onder narcose ge-

houden. Met een ademhalingspomp (Bird, Mark 8 Expirator) wordt voor een juiste beademing en voldoende zuurstoftoevoer gezorgd. Tevens is een koolzuurabsorber gebruikt. Om overmatige secreetvorming in de luchtwegen tegen te gaan is vooraf nog atropine gegeven.

Met bovenvermeld narcosemengsel is het proefdier zeer goed en eenvoudig onder narcose te houden, terwijl het voorts het voordeel heeft dat geen extra infuus behoeft te worden gegeven, zoals bv. bij thiopental, en dus niet meer vloeistof aan de hond behoeft te worden toegediend dan voor de verlangde urineproductie noodzakelijk is. Belangrijker is nog dat dit narcoticum geen absorptiespectrum heeft in het gebied rond de 237 m μ in het UV. Thiopental bijvoorbeeld heeft dit wel.

Het proefdier komt op tafel te liggen op een verwarmingskussen om afkoeling in de loop van het experiment te voorkomen.

Een vene van de linkervoorpoot wordt vrijgeprepareerd, waarna in deze vene een canule wordt geschoven. Op de ingebrachte canule wordt een driewegkraan geplaatst waarvan één opening benut wordt voor een infuus, nodig voor een voldoende urineproductie, terwijl door de andere opening de röntgencontrastmiddelen kunnen worden ingespoten.

Vervolgens wordt de linker arteria femoralis vrijgelegd en gecanuleerd voor controle van de bloeddruk en voor het afnemen van de benodigde bloedmonsters. Bij een aantal proefdieren is tevens de rechter vena femoralis tezamen met de rechter arteria femoralis vrijgeprepareerd voor aansluiting op de dialyseplaat. Om in geval van aansluiting van de vaten op de dialyseplaat stolling van het bloed in het circulatiesysteem te voorkomen, is ± 5 mg heparine per kg lichaamsgewicht intraveneus gegeven. Na scheren van de buikhuid, wordt via een mediane buikincisie het abdomen geopend en de ureteren opgezocht.

In beide ureteren wordt een catheter ingebracht, waarna ter fixatie en om lekkage te voorkomen, de ureteren rond de catheters worden afgebonden.

Tenslotte wordt het abdomen weer gesloten.

Bij die experimenten, waarbij de dialyseplaat is gebruikt, is de preparatie van het proefdier verricht onder steriele omstandigheden.

2. Meting van de urine-pH

Voor een continue meting van de urine-pH is in principe gebruik gemaakt van de methode beschreven door Sonnevile (1964). Aangezien kleine pH-verschillen voor ons onderzoek niet van belang zijn, hebben wij geen al te hoge eisen

behoeven te stellen. De urine wordt door een meetcuvette geleid, waarin zich het bolletje bevindt van de glaselektrode G265c, terwijl via een poreuze afsluiting de cuvette in geleidend contact staat met de referentie-elektrode, de calomelelektrode K401. Het geleidend contact tussen de meetcuvette en calomel-elektrode komt tot stand door middel van een verzadigde oplossing van KCl. Als meetapparatuur wordt gebruikt de pH-meter PHM22 van de firma Radiometer, terwijl deze is aangesloten op een vierkanalige Hellige recorder. De pH van de urine wordt hiermee continu geregistreerd. De pH-bepaling van de urine berust op een potentiaalverschil tussen de referentie-elektrode met vaste potentiaal en de glaselektrode waarvan de potentiaal afhankelijk is van de waterstofionenconcentratie.

Voordat tot meting van de urine-pH wordt overgegaan, wordt de pH-meter eerst geijkt met een ijkbuffer met pH 6,5.

3. Meting van de urineproductie

Voor de interpretatie van de veranderingen in een uitscheidingscurve is het registreren van de urineproductie per tijdseenheid wenselijk. Ook voor de stop-flow experimenten, zoals door ons uitgevoerd, is het een vereiste te weten hoe groot de urineproductie is, verkregen met behulp van een osmotisch diureticum.

Voor het meten van de urineproductie hebben we gebruik gemaakt van een druppelteller, welke bestaat uit een glazen buisje waarin een vrije uitstroomopening hangt. Aan deze opening vormt zich een druppel, welke ten gevolge van de urinestroom wordt afgestoten. Een lichtstraal, die op een foto-elektrische cel valt, wordt door de vallende druppel onderbroken, hetgeen een elektrische impuls geeft, welke geregistreerd wordt op de vierkanalige Hellige recorder. De grootte van de druppel wordt bepaald door de vorm en grootte van de uitstroomopening. IJking van de door ons gebruikte druppelteller geeft aan dat 16 druppels overeenkomen met 1 ml.

In die figuren, waarbij de urineproductie is uitgezet, zijn niet de oorspronkelijke registraties weergegeven aangezien deze vrij moeilijk te interpreteren zijn. Voor de overzichtelijkheid zijn ze in lijncurven omgezet waardoor de veranderingen in de urineproductie duidelijker zijn af te lezen.

4. Meting van de concentratie van contrastmiddelen in de urine

Een eenvoudige methode om concentraties van contrastmiddelen in de urine te bepalen, is de spectrofotometrische methode. Concentraties tot 1 mg per

liter kunnen gemeten worden bij 237 m μ . Gezien de grote gevoeligheid van deze methodiek, is het noodzakelijk gebleken de urine eerst te verdunnen alvorens de concentratie van een substantie te kunnen meten. Deze verdunning is bovendien wenselijk om absorptie door storende bestanddelen in de urine te voorkomen.

Op het ontworpen verdunningssysteem, bruikbaar voor een continue registratie van de concentratie van een contrastmiddel in de urine, zal verderop in dit hoofdstuk nog nader worden ingegaan.

Voordat tot de dierexperimenten kon worden overgegaan, is eerst van ieder contrastmiddel een ijkcurve samengesteld, weergevend het verband tussen extinctie of transmissie bij 237 m μ en het aantal mg substantie per liter.

De verdunde urine stroomt door de doorstroomcuvette in de Beckman DB en de uitslag van de spectrofotometer wordt op een recorder geregistreerd. Vermenigvuldiging van de gevonden hoeveelheid van de substantie met de toegepaste verdunning, bv. van 1 op 3000, geeft de hoeveelheid die door de nier per minuut wordt uitgescheiden.

5. Meting van de concentratie van creatinine in de urine

Als maat voor de glomerulaire filtratie geldt de clearance van substanties, welke niet aan tubulaire transporten onderhevig zijn. Substanties die hieraan beantwoorden zijn inuline, mannitol, thiosulfaat en creatinine (Smith 1951). Van creatinine mag men niet zonder meer stellen dat deze stof alleen door ultrafiltratie in de glomeruli door de nier wordt uitgescheiden. Vooreerst moet men een onderscheid maken tussen endogeen en exogeen creatinine. Bij de mens zou het exogene creatinine gedeeltelijk tubulair worden uitgescheiden in tegenstelling tot het endogene creatinine (Smith 1951). Waar dit verschil in gelegen is blijkt nog volkomen onduidelijk te zijn.

Voorts dient men rekening te houden met de diersoort waarbij men de creatinineclearance wil bepalen. We willen ons hier beperken tot de hond, het dier dat bij onze experimenten is gebruikt. De clearance van endogeen creatinine bij de hond lijkt lager te zijn dan de inulineclearance, waarbij de afwijking nogal afhankelijk blijkt van de methode welke men heeft toegepast om endogeen creatinine aan te tonen. De aanwezigheid van andere endogene chromogenen mag hiervoor verantwoordelijk worden gesteld (Smith 1951).

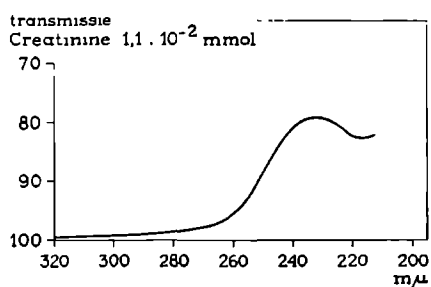
De clearance van exogeen creatinine is bij de hond nagenoeg gelijk aan de inulineclearance (Barclay 1949, Richards c.s. 1934, Shannon 1936 en van Slijke c.s. 1935).

Toch zijn er latere publikaties, waarin een tubulaire excretie van exogeen creatinine wordt vermeld. Zo vinden O'Connell en medewerkers (1962) een zeer geringe tubulaire excretie van creatinine, bestaande uit de endogene en exogene vorm, welke in hoofdzaak bij de reu optreedt. Bij teven is een tubulaire uitscheiding van creatinine nauwelijks aantoonbaar, tenzij na het geven van testosteron. Ook Swanson en Hakim (1962) vinden o.a. bij stop-flow proeven bij de reu aanwijzingen voor een geringe tubulaire bijdrage in de uitscheiding van exogeen creatinine. Zij vinden een creatinine/inuline ratio van $1,2 \pm 0,1$. Bij hun berekening van de plasmaconcentratie wordt het endogene creatinine, geschat op 1 mg %, op het totaal in mindering gebracht. Uit niets blijkt verder dat zij van de totale concentratie van creatinine in de urine ook de endogene fractie hebben afgetrokken. Dit kan de hogere creatinineclearance verklaren. Op grond van de gegevens uit de literatuur hebben wij gemeend de clearance van het exogene creatinine veilig als maat voor de glomerulaire filtratie te kunnen gebruiken.

Zekerheidshalve zijn voor onze experimenten alleen teven gebruikt.

Dat de keuze bij voorkeur is gevallen op creatinine komt door het feit dat deze substantie zeer goed bruikbaar is voor een continue bepaling ervan in de urine. Het is namelijk mogelijk creatinine spectrofotometrisch aan te tonen, mits de pH van het milieu boven de 5,5 is gelegen. Het spectrum van creatinine toont een maximale absorptie in het UV bij 232 m μ en is bij 237 m μ goed te meten (figuur 1).

Door de urine, na verdunning, door de flowcel in de spectrofotometer te leiden is de concentratie van creatinine eenvoudig continu te registreren.



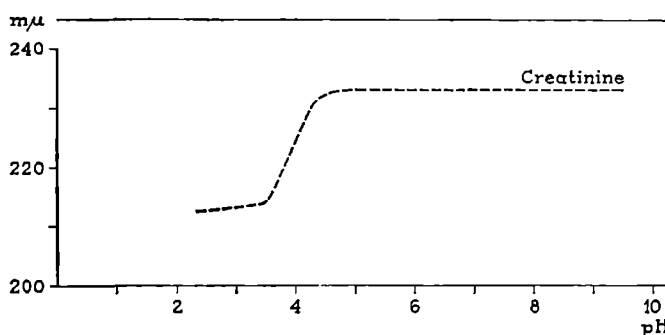
FIGUUR 1: Absorptiespectrum van creatinine in UV

FIGURE 1: Absorption spectrum of creatinine in UV

Voor het aflezen van de concentratie is vooraf weer een ijkcurve gemaakt bij een verdunning van 1 op 1000 per minuut.

Ten gevolge van de toegepaste verdunning van de urine, nodig voor de bepaling van de concentraties van de contrastmiddelen, is het endogene creatinine in de urine nauwelijks aan te tonen en moet exogeen creatinine worden bijgegeven. Bij de spectrofotometrische bepaling van de concentratie moet men nog wel rekening houden met de pH van het milieu. Uit de spectra van creatinine bij verschillende pH blijkt, dat bij een pH groter dan 5,5 het spectrum niet meer verandert (figuur 2).

Om een ruime marge te houden is een geringe hoeveelheid fosfaatbuffer (pH 8,4) aan de verdunde urine toegevoegd.

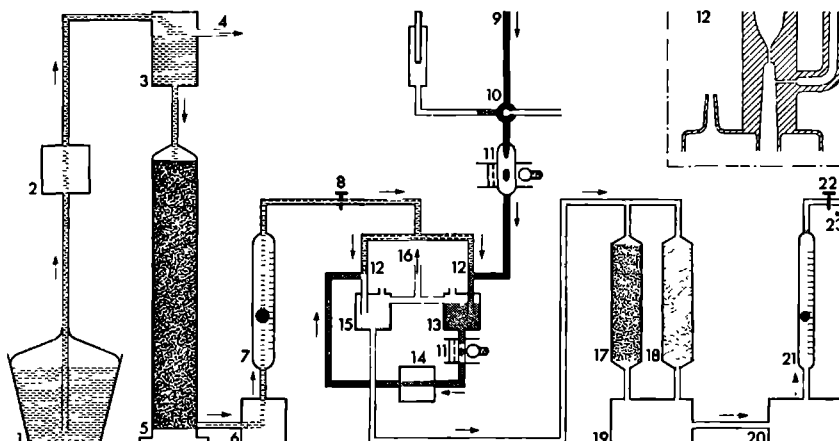


FIGUUR 2: Relatie tussen de maximale transmissie van creatinine bij 237 mμ en de pH van de oplossing

FIGURE 2: Relation between the maximal transmission of creatinine at 237 mμ and the pH of the solution

6. Verdunningssysteem en ijking

Om de concentratie van röntgencontrastmiddelen in de urine spectrofotometrisch te kunnen bepalen is, gezien de grote gevoeligheid van de Beckman en de hoge uitscheiding van de onderzochte contrastmiddelen, een sterke verdunning van de urine noodzakelijk gebleken. Bij onze continue bepalingsmethode is een verdunning van de urine van 1 tot 3 liter per minuut wenselijk. Het toegepaste verdunningssysteem is in figuur 3 schematisch weergegeven. Als verdunningsvloeistof wordt gebruikt aqua destillata, dat uit een mandfles omhoog wordt gepompt naar een reservoir met een inhoud van ongeveer 10 liter. Dit reservoir waarborgt een constante druk doordat via een overloop er voor ge-



FIGUUR 3: Schematische weergave van de apparatuur gebruikt voor de meting van de urine-pH en de urineproductie en van het verdunningssysteem en de Amberlite-kolommen

FIGURE 3: Schematic representation of apparatus used in measuring the pH of the urine and the urine production and of the system of dilution and the Amberlite columns

- | | |
|---|---|
| 1. Mandfles met aqua destillata | 1. Flask for distilled water |
| 2. Pomp | 2. Pump |
| 3. Overloopvat voor constante waterdruk | 3. Constant leveling device |
| 4. Overloop aqua destillata (terug naar mandfles) | 4. Overflow return to flask 1 |
| 5. Ionenuitwisselaar Amberlite IR-120-H + IRA-400 | 5. Ion exchanger Amberlite IR-120-H + IRA-400 |
| 6. Watergeleidingsvermogenmeter | 6. Conductivity meter |
| 7. Flowmeter | 7. Flow meter |
| 8. Regelkraan | 8. Regulation valve |
| 9. Urine-invoer | 9. Urine inlet |
| 10. pH-meetcuvette | 10. pH-electrode |
| 11. Druppelteller | 11. Droplet counter |
| 12. Mengsysteem | 12. Mixing system |
| 13. Verdunningsvaatje (A) | 13. Dilution flask (A) |
| 14. Slangenpomp | 14. Tube pump |
| 15. Verdunningsvaatje (B) | 15. Dilution flask (B) |
| 16. Afzuig beide verdunningsvaatjes met waterstraalpomp | 16. Exit for excess liquid via water vacuum pump |
| 17. Kationenuitwisselaar Amberlite IR-120-H | 17. Cation exchanger Amberlite IR-120-H |
| 18. Anionenuitwisselaar Amberlite IR-4-BOH | 18. Anion exchanger Amberlite IR-4-BOH |
| 19. Magnetische klep | 19. Magnetic valve |
| 20. Beckman DB spectrofotometer met doorstroomcuvette | 20. Beckman DB spectrophotometer with flow-through cell |
| 21. Flowmeter | 21. Flow meter |
| 22. Regelkraan | 22. Regulation valve |
| 23. Afzuig door waterstraalpomp | 23. Exit via water vacuum pump |

zorgd wordt dat steeds een zelfde hoeveelheid water in het vat aanwezig is. Vanuit dit vat stroomt het aqua destillata met een constante snelheid over een grote Amberlite-kolom, bestaande uit kationen- en anionenuitwisselaar. Het gebruik van een dergelijke Amberlite-kolom is noodzakelijk gebleken om de verderop geplaatste Amberlite-kolommen een zo lang mogelijke houdbaarheid te geven.

Na passage door de gemengde Amberlite-kolom, waarachter nog een meet-apparatuur is geplaatst welke de zuiverheid van het water registreert, stroomt het water door een flowmeter. De verdunning kan worden ingesteld met een regelkraan welke achter de flowmeter is geplaatst.

De verdunningsvloeistof wordt nu gesplitst en naar twee verdunningsvaatjes geleid (A en B). Beide vaatjes hebben een inhoud van 15 ml. In A vindt de eerste menging plaats van de urine met aqua bidestillata. Een constant deel van dit mengsel wordt met een synchroon draaiende slangenpomp naar B gepompt. Het overige deel van de verdunde urine wordt met een waterstraalpomp door een overloop weggezogen. In vaatje B vindt de tweede verdunning plaats. Een deel van deze eindverdunning wordt met een waterstraalpomp door de doorstroomcuvette in de Beckman gezogen.

Het niet-benutte deel van de verdunde urine wordt weer uit B met een waterstraalpomp weggezogen, in feite in combinatie met het niet-benutte deel van de voorverdunde urine uit A. De flowmeter achter de Beckman-cuvette dient ter controle van een regelmatige en voldoende snelle doorstroming van de cuvette. Tussen de flowmeter en de waterstraalpomp is een regelkraan geplaatst.

Aan het begin van ieder experiment, en vaak ook ter controle nog eens aan het eind ervan, wordt de verdunning geijkt. Het verdunningssysteem wordt aangezet door de regelkraan achter de verdunningsflowmeter open te draaien. De kogel in de flowmeter wordt op die hoogte geplaatst, waarbij men een bepaalde gewenste verdunning verwacht. Door verandering aan te brengen in de stand van de flowmeter kan men tijdens de ijking de verdunning op iedere gewenste hoogte brengen.

De ijking geschiedt door een constante hoeveelheid contrastmiddeloplossing met een bekende concentratie per minuut naar het verdunningssysteem te pompen. Met de gevonden transmissie op de spectrofotometer geregistreerd wordt op een ijkcurve afgelezen met hoeveel mg contrastmiddel deze transmissie overeenkomt. Door deze waarde te delen op de hoeveelheid contrastmiddel welke per minuut is aangeboden aan het verdunningssysteem, is de verdunning bekend. Met een verdunning per tijdseenheid wordt de uitscheiding

van een contrastmiddel ook per tijdseenheid geregistreerd, onafhankelijk van de urineproductie. Wel is het zo dat een onregelmatige urineproductie gepaard gaat met enige schommeling van de uitscheidingscurve.

7. Gelijktijdige registratie van röntgencontrastmiddelen en creatinine in de urine

Röntgencontrastmiddelen en creatinine kunnen bij dezelfde golflengte in het UV gemeten worden, namelijk bij 237 m μ . Om nu de concentratie van beide substanties in dezelfde urine continu, gelijktijdig en toch gescheiden te kunnen bepalen, is gebruik gemaakt van ionenuitwisselaars. Röntgencontrastmiddelen hebben een zuur karakter, terwijl het creatinine amfoteer is met een iets meer basisch dan zuur karakter. Op grond van dit verschil is het mogelijk met behulp van Amberlite-kolommen hetzij het contrastmiddel, hetzij creatinine uit de verdunde urine te elimineren.

Amberlite bestaat uit harskorreltjes, waaraan functionele groepen zijn gesubstitueerd, welke, afhankelijk van het type, kationen of anionen kunnen uitwisselen. Als anionenuitwisselaar is Amberlite IR-4-BOH, een zwak basische uitwisselaar, het meest geschikt gebleken. Door het amfotere karakter van creatinine is een zwakke anionenuitwisselaar gewenst, omdat anders creatinine ten gevolge van zijn zwak zure eigenschap gebonden zou worden. In genoemde Amberlite-kolom (zie figuur 3 no. 18) wordt het contrastmiddel uitgewisseld tegen OH⁻-ionen. Verdunde urine, welke over deze kolom wordt geleid, zal alleen nog creatinine bevatten. Met ijkoplossingen van creatinine is vastgesteld, dat deze stof een Amberlite IR-4-BOH-kolom ongehinderd passeert.

Als kationenuitwisselaar is gebruikt het Amberlite IR-120-H. In een kolom van deze harskorreltjes (zie figuur 3 no. 17) wordt het creatinine uitgewisseld tegen H⁺-ionen, zodat in de urine, welke deze kolom gepasseerd is, geen creatinine meer aanwezig is, maar alleen nog maar het contrastmiddel. Met een ijkoplossing is de bruikbaarheid van dit Amberlite-type gebleken.

In de experimentele opstelling wordt met behulp van een magnetische klep de verdunde urine afwisselend over de Amberlite-kolommen geleid en daarna door de doorstroomcuvette in de spectrofotometer, waar de concentratie van het contrastmiddel en van creatinine beurtelings wordt gemeten. Op deze wijze ontstaat een zigzag verlopende lijn. Op het moment dat deze lijn van richting verandert, wordt of de concentratie van het contrastmiddel of van creatinine geregistreerd.

Iedere meetperiode bedraagt 7¹/₂ seconden. Bij een doorstromingssnelheid door de cuvette van 40 ml per minuut is deze periode ruim voldoende.

Bij gebruik van genoemde Amberlite-kolommen dient men wel bepaalde voorzorgsmaatregelen te treffen. Bij een te hoog aanbod van kationen, zoals Na^+ -ionen, kan de kationenuitwisselaar spoedig verzadigd raken en derhalve creatinine gaan doorlaten. Wanneer de dialyseplaat wordt gebruikt voor bepaling van de vrije plasmaconcentratie, zoals nog zal worden besproken, dient men bij de keuze van de dialysevloeistof, welke via een kationenuitwisselaar naar de doorstroomcuvette in de spectrofotometer wordt geleid, hiermede rekening te houden. De anionenuitwisselaar IR-4-BOH blijkt uiterst gevoelig voor anionen zoals Cl^- -ionen. Deze ionen kunnen gemakkelijk de contrastmiddelmoleculen van de Amberlite-korrels verdringen.

8. Bepaling van de totale plasmaconcentratie van het contrastmiddel

Na injectie van het contrastmiddel zijn op bepaalde tijden bloedmonsters afgenomen uit de arteria femoralis. Deze bloedmonsters, meestal 4 of 5 van 40 ml, worden gecentrifugeerd. Het aldus verkregen plasma wordt afgenomen voor bepaling van de concentraties erin van de te onderzoeken substanties.

Voor de kwantitatieve bepaling van de totale concentratie van het röntgen-contrastmiddel kan worden verwezen naar hoofdstuk IV, sub V.

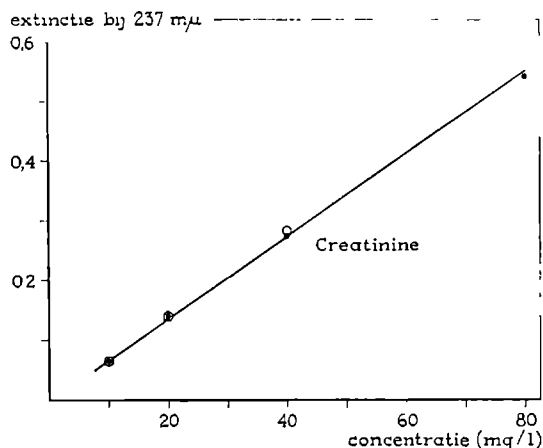
9. Bepaling van de vrije plasmaconcentratie van het contrastmiddel

Bij de eerste serie clearance-experimenten is de vrije plasmaconcentratie niet bepaald, doch zijn de *in vitro* gevonden percentages eiwitbinding der verschillende contrastmiddelen, bepaald met de evenwichts-dialyse, op de gevonden totale plasmaconcentratie betrokken. Deze methode is uiteraard niet nauwkeurig.

Voor het bepalen van de vrije concentratie in de monsters is de evenwichts-dialyse niet bruikbaar, omdat bij deze methode een verdunning optreedt van de uitgangsconcentratie. Op de problemen rond de ultracentrifugatie en ultrafiltratie als methodiek voor de eiwitbindingsbepaling is in Hoofdstuk IV, sub IV, 3 en 4 reeds gewezen.

Een nieuwe mogelijkheid tot bepaling van de vrije concentratie biedt de dialyseplaat. Door aansluiting van deze plaat op de arteria en de vena femoralis kan een continue registratie van de vrije plasmaconcentratie worden verkregen. De dialyseplaat is bruikbaar voor bepaling van de vrije plasmaconcentratie wanneer er een lineair verband bestaat tussen de vrije concentratie van het contrastmiddel in het plasma en de hoeveelheid van het contrastmiddel welke

gedialyseerd wordt bij een bepaalde constante doorstroomsnelheid van bloed of plasma en dialysevloeistof door de dialyseplaat. Om een lineair verband vast te stellen zijn oplossingen van o.a. verschillende concentraties creatinine door de dialyseplaat gepompt en de concentratie van de stof in het dialysaat spectrofotometrisch bepaald. Als oplosmiddelen zijn gebruikt fosfaat-NaCl-buffer en 4 % runderalbumine-oplossing. Uit figuur 4 blijkt dat er een lineair verband bestaat tussen de toegevoerde concentratie van creatinine in buffer- of albumine-oplossing en de gemeten concentratie van creatinine in het dialysaat. Ook voor contrastmiddelen is dit het geval gebleken.



FIGUUR 4: Verband tussen de concentraties van creatinine in een bufferoplossing (•) of een 4 % runderalbumine-oplossing (o) en de gemeten extincties van het dialysaat.

FIGURE 4: Relation between the concentrations of creatinine in a buffer solution (•) or a 4% solution of bovine albumin (o) and the extinctions measured of the dialysate.

Voorts is belangrijk dat slechts een uiterst kleine fractie van het contrastmiddel de dialysemembraan passeert, zodat de concentratie van het contrastmiddel in het bloed niet belangrijk vermindert tijdens de passage van het bloed door de dialyseplaat. Dit kan gerealiseerd worden door het bloed en het dialysaat zo snel mogelijk door de dialyseplaat te pompen. De snelheid van doorstroming door de dialyseplaat is gebracht op 8 ml per minuut, waarbij minder dan 1 % van het contrastmiddel uit het bloed de dialysemembraan passeert. Een hogere doorstroomsnelheid bleek niet mogelijk gezien de grote weerstand van de dialyseplaat.

Het dialysaat wordt anderhalf maal verdund met aqua destillata en vervolgens via een Amberlite-kolom IR-120-H door de doorstroomcuvette in de Beckman DB geleid. Genoemde Amberlite-kolom wisselt creatinine uit tegen H^+ , zodat alleen het contrastmiddel wordt gemeten.

Om verdringing van het creatinine van de Amberlite-kolom tijdens de experimenten te voorkomen is geen NaCl-oplossing als dialysevloeistof gebruikt, maar een isoösmotische glucose-oplossing (8g per l).

Om de werkelijke concentratie op de curve te kunnen aflezen is als volgt te werk gegaan. Na afnemen van het laatste bloedmonster, voor bepaling van de totale plasmaconcentratie, wordt de dialyseplaat van de vena femoralis losgekoppeld. De vrijgekomen slang van de dialyseplaat wordt aangesloten op een fles, welk op een temperatuur van 37° wordt gehouden. Wanneer zich ongeveer 160 tot 200 ml bloed in de fles bevindt, wordt de dialyseplaat losgemaakt van de arteria femoralis. De aansluitslang wordt eveneens aan de fles gekoppeld. Gedurende ongeveer 10 minuten wordt het bloed uit de fles door de dialyseplaat gepompt.

De extinctie van het dialysaat wordt inmiddels continu geregistreerd. Aan de hand van deze extinctie kan de plasmaconcentratie geijkt worden, hetgeen op de volgende wijze mogelijk is.

Het bloed uit de fles wordt gecentrifugeerd. Het plasma wordt teruggegoten in de fles en gedurende 24 uur gedialyseerd tegen een kleine hoeveelheid (± 2 ml) NaCl 0,9 %. Deze oplossing is steriel. De concentratie in het dialysaat wordt op de gebruikelijke wijze spectrofotometrisch bepaald (hoofdstuk IV). De gevonden concentratie behoort nu bij de extinctie, verkregen via de dialyseplaat aan het bloed uit de fles. Hiermede is de gehele curve geijkt. Ter bepaling van de betrouwbaarheid van deze methode is tegelijkertijd in het plasma in de fles tevens een zakje gehangen van Visking dialyseslang met een inhoud van 4 ml. In het zakje bevindt zich NaCl-fosfaat-buffer, pH 7,4. Het plasma in de fles wordt magnetisch geroerd.

Na 24 uur wordt de concentratie van het contrastmiddel in het dialysaat in het zakje bepaald en vergeleken met de concentratie in het dialysaat uit de dialyseplaat. De gevonden concentraties zijn steeds nagenoeg gelijk gebleken. In geval er van een contrastmiddel geen eiwitbinding plaatsvindt, is de curve voor de vrije plasmaconcentratie uiteraard tevens een curve voor de totale plasmaconcentratie.

Het is bij de curve van de vrije concentratie wel zo, dat men dat punt op de curve, dat behoort bij de totale concentratie, bepaald uit het bloedmonster,

niet zonder meer mag vaststellen aan de hand van de tijd verlopen tussen het moment van injectie van het contrastmiddel en het tijdstip van afnemen van het monster. Door de af te leggen weg zal een zekere verschuiving van de curve optreden. Deze, wat men zou kunnen noemen, najl tijd is te bepalen met behulp van een experimentele en theoretische curve.

In een vaatje bevindt zich V ml water waarin een contrastmiddel met een concentratie $[S]_0$. Aan het vaatje wordt een hoeveelheid contrastmiddeloplossing toegevoegd met een concentratie $[S]_A$, welke lager is dan $[S]_0$ en met een snelheid van v ml per minuut. Het mengsel loopt met een zelfde snelheid van v ml per minuut via de dialyseplaat door de Beckman-cuvette. De concentratie op ieder tijdstip is $[S]_t$.

Er kan nu een theoretische curve worden getrokken aan de hand van de volgende vergelijking:

$$[S]_t = [S]_0 e^{-\frac{v}{V} t} + [S]_A (1 - e^{-\frac{v}{V} t})$$

Het verschil in ligging van de theoretische curve ten opzichte van de geregistreerde curve geeft de najl tijd aan.

10. *Bepaling van de creatinineconcentratie in het plasma*

Het plasma van de bloedmonsters wordt geültrafiltreerd.

Het ultraftraat wordt over een Sephadex DEAE-kolom geleid, waardoor er een scheiding optreedt van röntgencontrastmiddel en creatinine. De creatininefractie wordt spectrofotometrisch bepaald. De meting geschiedt bij 237 mμ in het UV. Met deze methodiek kan nog 10 mg per liter worden aangetoond. Aanvankelijk is geprobeerd ook de creatinineconcentratie in het plasma middels de dialyseplaat continu te registreren. Door weer gebruik te maken van een anionenuitwisselaar is in principe de continue meting van de creatinineconcentratie mogelijk zonder dat het röntgencontrastmiddel stoort. Het is echter gebleken dat de samenstelling van het dialysaat uit de dialyseplaat dusdanig is, dat er een sterke verdringing optreedt van het contrastmiddel van de anionenuitwisselaar, Amberlite IR-4-BOH. Vermoedelijk is dit het gevolg van een voor deze kolom te hoog aanbod van bv. Cl⁻-ionen in het dialysaat. Hierdoor is deze methodiek onbruikbaar geworden.

III. STOP-FLOW METHODE

1. *Methodiek*

Het tot stilstand brengen van de urinestroom, door afsluiting van de ureter bij een osmotische diurese, gedurende een tijd van 6 tot 8 minuten en het bepalen van de concentraties van de te onderzoeken stoffen in de urinemonsters, opgevangen na het opheffen van de urinestop, wordt de 'stop-flow' techniek genoemd.

De stop-flow methode is gebaseerd op de veronderstelling dat bij een opheffen van de waterterugdiffusie de druk in de nefronen na afsluiting van de ureter in korte tijd dusdanig stijgt dat hierdoor de glomerulaire filtratie tot stilstand komt. De tubulaire transportprocessen blijven functioneren, hetgeen tot uiting komt in concentratieveranderingen in de stilstaande urinekolom in de nefronen. De waterterugdiffusie is te verlagen door toediening van osmotisch actieve stoffen welke door de glomeruli gefiltreerd worden en geen tubulaire terugdiffusie ondergaan. Het zijn stoffen uit de groep van de osmotische diuretica waarvan mannitol de belangrijkste representant is voor de stop-flow. Het komt echter niet tot een volledig opheffen van de glomerulaire filtratie (Taylor c.s. 1961), doordat steeds nog wat vloeistof door de tubulismembraan lekt of de hoge tubulaire druk zich voortzet op de omringende bloedvaten en vandaar op de glomerulaire capillairen. De filtratie is echter wel gering en bedraagt slechts enkele procenten van vóór de occlusie. In het proximale deel van het nefron kan dus nog een geringe flow plaatsvinden tijdens de periode van afsluiting van de ureter. In de distale tubuli zou de urinestroom volledig tot stilstand zijn gekomen. In de tot stilstand gekomen urinestroom kunnen zich nu de tubulaire transportprocessen duidelijk manifesteren.

De stop-flow methode is geïntroduceerd door Malvin en medewerkers (1958). Later is de techniek nog gemodificeerd in een ischemische stop-flow, waarbij tijdens het stoppen van de urineflow tevens de arteria en vena renalis worden afgebonden (Metaxas c.s. 1963). Het voordeel van deze methodiek zou zijn dat de transportprocessen in de nefronen nog duidelijker zouden worden en beëindiging van de glomerulaire filtratie in ieder geval compleet zou zijn. Onze eerste ervaring met de stop-flow methode is van dien aard geweest dat we van de ischemische stop-flow hebben afgezien. In enkele gevallen werd een low-flow techniek toegepast en wel om een geprotraheerde pH-verlaging van de urine te bewerkstelligen.

De stop-flow experimenten zijn met iedere nier afzonderlijk verricht.

Ook bij deze experimenten is gestreefd naar een continue registratie van de

urine-pH en van de concentratie van röntgencontrastmiddelen en creatinine. Om dit te verwezenlijken is een eigen methodiek ontworpen. Met een infuus van mannitol 15% wordt een hoge urineproductie opgewekt. Mannitol is goed bruikbaar aangezien het geen absorptie geeft bij 237 m μ .

In afhankelijkheid van de grootte van de hond kan met mannitol een urineproductie worden verkregen van 4 tot 6 ml per minuut en per nier. Wanneer dit is bereikt worden de uretercatheters aangesloten op een slangenpomp, waarvan de capaciteit wordt ingesteld op ongeveer 85 procent van de osmotische urineproductie. De slangenpomp is aangesloten op een glazen spiraal met een inhoud van ongeveer 60 ml. Hierin wordt de urine gepompt afgewisseld met luchtballen om vermenging van de urine in de spiraal te voorkomen. Er ontstaan dan urineporties welke door een luchtbel van elkaar zijn gescheiden. Afvlakking van bv. een tubulaire excretiepiek wordt hiermede tegengegaan. Bij latere stop-flow experimenten is alvorens tot het stopzetten van de urineflow over te gaan, eerst de slangenpomp gedurende 1 tot 2 minuten aangezet, waarbij deze tijd afhankelijk is van de spontane urineproductie.

De opzet van deze voorloop is, te voorkomen dat de urine uit het distale deel van het nefron gedeeltelijk in het aanloopgebied van de curve komt te liggen. Wanneer urine met contrastmiddel aan het verdunningssysteem wordt toegevoegd zal niet onmiddellijk de vereiste concentratie worden geregistreerd.

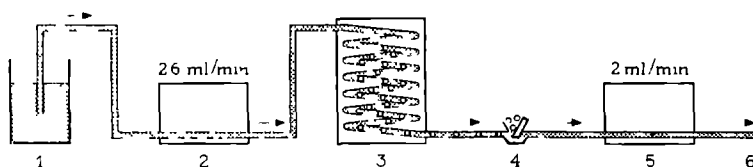
Het eerste deel van een stop-flow curve omvat nu urine van voor het stopzetten van de urinestroom. Hierdoor is men in staat de urine afkomstig uit de distale tubuli nauwkeurig te vergelijken met de concentraties van de substanties in de urine van vóór de eigenlijke stop.

Door de slangenpomp uit te schakelen wordt de urineflow stil gelegd. Er is een stopperiode aangehouden van 6 minuten. Ongeveer 30 seconden voor het opheffen van de stop wordt intraveneus creatinine gegeven, als indicator voor het verschijnen van nieuw glomerulair filtraat.

Bij die experimenten waarbij een Na₂SO₄-infuus is gegeven voor verlaging van de urine-pH, kon de creatininecurve niet geregistreerd worden i.v.m. het reeds eerder vermelde gedrag van de Amberlite IR-4-BOH-kolom.

Door de slangenpomp weer aan te zetten wordt de stoptijd beëindigd en de urine met dezelfde snelheid als van de voorlooperperiode in de spiraal gepompt, afgewisseld weer met luchtballen. Wanneer de spiraal gevuld is, wordt de pomp stilgezet en worden de uretercatheters weer van de slangenpomp los gemaakt. Het wegpompen van de urine uit de spiraal gebeurt met een dusdanige snelheid dat per minuut 2 ml urine wordt verdund. Voordat de urine de pH-cuvette

bereikt, moeten de luchtbellen welke met de urine uit de spiraal komen, worden verwijderd. Dit probleem is opgelost door de luchtbellen in een soort T-vormige luchtbelvanger te laten ontsnappen (figuur 5). Met een slangenpomp wordt de urine met de luchtbellen naar de luchtbelvanger gepompt met een snelheid van ongeveer 2,6 ml per minuut, terwijl de urine erachter wordt weggepompt met een snelheid van 2 ml per minuut. Bij een goede verhouding tussen volume urine en volume luchtbellen (0,6 ml/min) zal op deze wijze geen lucht in de pH-cuvette terecht kunnen komen. De urine wordt verdund en via de Amberlite-kolommen door de doorstroomcuvette in de Beckman DB geleid.



FIGUUR 5: Schematische weergave van het systeem gebruikt voor het leegpompen van de spiraal waarin urine, verzameld na de stopperiode, en luchtbellen

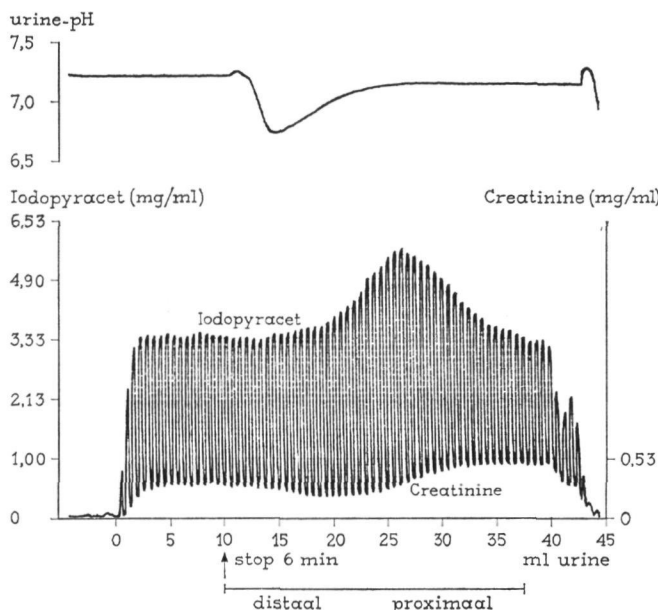
FIGURE 5: Schematic representation of the system used for emptying the spiral containing air bubbles and urine which was collected after the stop period. This system was developed to eliminate the air bubbles from the urine dilution before measuring the concentration of the radiopaque agent in the spectrophotometer.

- | | |
|---|--|
| 1. Vat met water | 1. Water flask |
| 2. Slangenpomp | 2. Tube pump |
| 3. Glazen spiraal | 3. Glass spiral |
| 4. Luchtbelvanger | 4. Air purger |
| 5. Slangenpomp | 5. Tube pump |
| 6. Afvoer naar pH-cuvette en verdunningssysteem | 6. Outlet to pH-cuvette and the system of dilution |

2. Interpretatie van de stop-flow curves

In de stop-flow curves komt de daling van de pH van de urine overeen met het gebied van het distale deel van het nefron, terwijl een excretiepiek van bv. iodo-pyracet in het gebied van de proximale tubuli ligt (figuur 6). Een duidelijke grens tussen het distale en proximale deel van het nefron kan feitelijk niet worden aangegeven, gezien het verschil in lengte der nefronen in een nier. In figuur 7 is de overlapping van de distale en proximale tubuli aan de hand van de stop-flow curve met iodo-pyracet schematisch weergegeven naar het voorbeeld van Wilde en Malvin (1958). De nefronen zijn hierbij verdeeld in 4 groepen van verschillende lengten. De lengte en de variatie hierin komen tot uiting in het

dalende been van de pH-curve enerzijds en anderzijds door de oplopende curve van creatinine, welke het nieuwe filtraat representeert na opheffen van de stop. De lengte van de distale tubuli komt tot uiting door de vorm van de dalende urine-pH-curve, terwijl de lengte van de proximale tubuli zichtbaar wordt door het opstijgende been van de excretiepiek van iodopyracet aan de ene kant en de stijging van de creatinineconcentratie aan de andere kant. In deze schema-



FIGUUR 6: Stop-flow experiment met iodopyracet (Pyelombrine M®) bij een hond, 21 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie. Er is een infuus van mannitol 15% gegeven. Urineproductie: 6 ml/min/nier. 30 seconden voor het opheffen van de ureterblokkade is 150 mg creatinine (i.v.) gegeven.

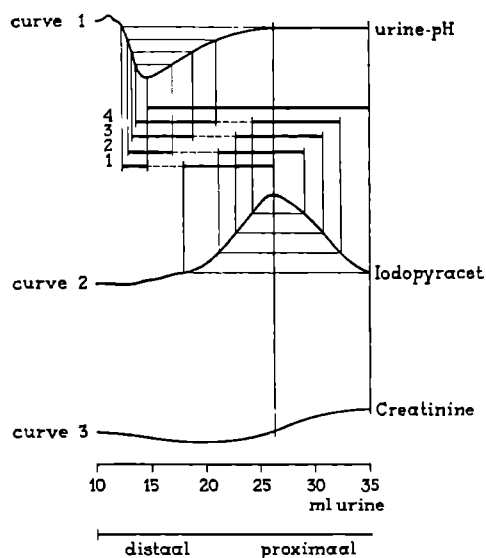
Opmerking: Er is een duidelijke actieve tubulaire excretie van iodopyracet. De daling van de urine-pH komt overeen met het distale gedeelte van de nefronen; de toename van de iodopyracetconcentratie komt overeen met het proximale deel van de nefronen. De stijging van de concentratie van creatinine wijst op het verschijnen van nieuw filtraat.

FIGURE 6: Stop flow experiment with iodopyracet (Pyelombrine M®) at a dog, 21 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.). An infusion of mannitol 15% is given. The urine production is 6 ml/min/kidney. 30 seconds before the stop period is terminated 150 mg creatinine is given (i.v.).

Note: There is an active tubular excretion of iodopyracet. The decrease in the pH of the urine corresponds with the distal part of the nephrons; the increase of the concentration of iodopyracet corresponds with the proximal part of the nephrons. The increase of the concentration of creatinine indicates the appearance of new ultrafiltrate.

tische voorstelling is de overlapping van de distale en proximale tubuli duidelijk af te lezen.

In hoeverre mag een stijging in de concentratie van een contrastmiddel in het gebied van de proximale tubuli aan een tubulaire excretie worden toegeschreven? Een toename van de concentratie zou ook veroorzaakt kunnen worden door een concentratieverhoging ten gevolge van een waterterugdiffusie in het proximale gedeelte van het nefron. Bij een osmotische diurese blijkt de water-



FIGUUR 7: Schematische voorstelling van de overlapping van de distale en proximale tubuli ten gevolge van een verschil in lengte der nefronen.

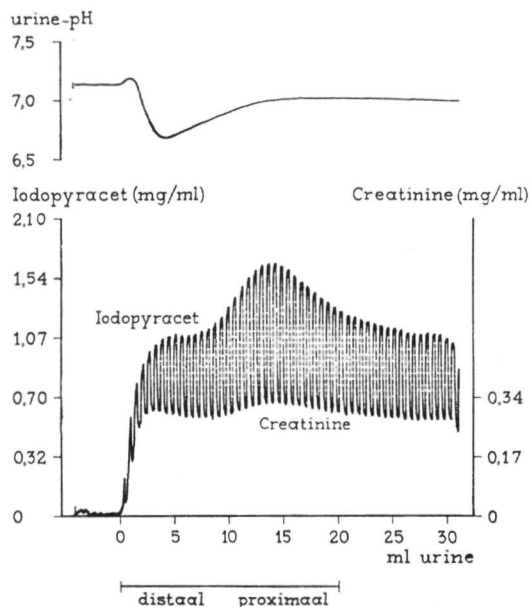
Opmerking: De curven in deze figuur zijn ontleend aan figuur 6.

De nefronen zijn in 4 groepen verdeeld. Curve 1 (urine-pH) bepaalt de lengte van de distale tubuli. De lengte van de proximale tubuli komt tot uiting in de stijging van curve 2 (iodopyracetconcentratie) aan de ene kant en de toename in de creatinineconcentratie, curve 3, aan de andere kant. Op dat punt waar de urine-pH het laagst is of de iodopyracetconcentratie het hoogst zijn alle distale of proximale tubuli bij het transport betrokken.

FIGURE 7: Schematic representation of the overlapping of the distal and proximal tubules as a result of a difference in length of the nephrons.

Note: the curves are derived from figure 6.

The nephrons are divided in 4 groups. The length of the distal tubules is determined by curve 1 (urine-pH). The length of the proximal tubules is determined by the increase of curve 2 (iodopyracet concentration) on one side and on the other side by the increase of the concentration of creatinine (curve 3). At that point where the changes of the urine-pH or the concentration of iodopyracet are maximal, all the distal or proximal tubules are involved in the transport processes.



FIGUUR 8: Stop-flow experiment met iodopyracet (Pyelombrine M®) bij een hond, 19 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus van mannitol 15% gegeven. Urineproductie: $4\frac{1}{2}$ ml/min/nier.

Opmerking: tijdens de stopperiode is geen creatinine bijgegeven. De lichte stijging van de concentratie van creatinine in het gebied van de proximale tubuli moet worden toegeschreven aan een geringe waterterugdiffusie tijdens de stopperiode.

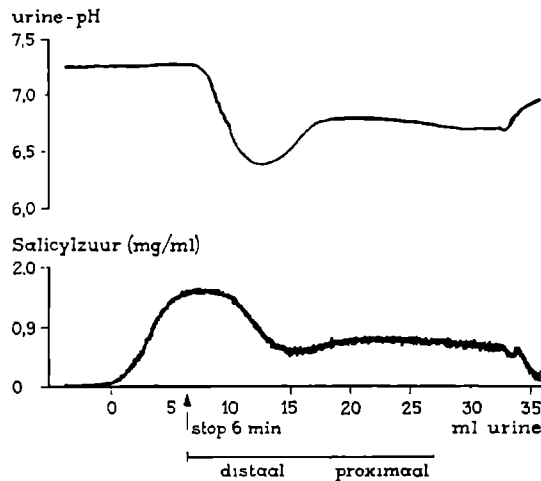
FIGURE 8: Stop flow experiment with iodopyracet (Pyelombrine M®) at a dog, 19 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

An infusion of mannitol 15% is given. The urine production is $4\frac{1}{2}$ ml/min/kidney.

Note: there is no creatinine given before the stop period is terminated. The slight increase in the concentration of creatinine in the proximal part of the nephrons is due to a slight back-diffusion of water during the stop period.

terugdiffusie dermate te zijn afgenomen, dat dit in nog slechts geringe mate aanleiding geeft tot een verhoging van de concentratie van een substantie in de voorurine. In figuur 8 komt dit aan de hand van de creatininecurve duidelijk tot uiting. Bij dit experiment is vóór het opheffen van de stop geen extra creatinine bijgegeven.

Iedere serie stop-flow proeven bij een hond is besloten met een stop-flow experiment met iodopyracet, teneinde vast te stellen of de nieren van het betreffende proefdier normaal gefunctioneerd hebben.



FIGUUR 9: Stop-flow experiment met salicylzuur bij een hond, 13 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus gegeven van mannitol 15%. Urineproductie: 4 ml/min/nier.

Opmerking: er is een duidelijke teruggifusie te zien van salicylzuur in het distale deel van het nefron. De creatinine-uitscheiding kon bij dit experiment niet geregistreerd worden, doordat de anionenuitwisselaar niet goed functioneerde.

FIGURE 9: Stop flow experiment with salicylate at a dog, 13 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

An infusion of mannitol 15% is given. The urine production is 4 ml/min/kidney.

Note: there exists a back-diffusion of salicylate in the distal part of the nephrons. In this experiment the creatinine excretion could not be registered, because the anion exchanger did not function.

Tenslotte is de stop-flow techniek getest als methode om een teruggifusie van een organische substantie in het distale deel van de nefronen aan te tonen. Een experiment met salicylzuur, een stof waarvan bekend is dat het teruggifundeert en waarvan de mate waarin afhankelijk is van de pH van de urine, heeft aangetoond dat de stop-flow methode, in het bijzonder de gecombineerde stop- en low-flow methode, hiervoor zeer goed bruikbaar is (figuur 9).

IV. CLEARANCEBEPALINGEN

Na preparatie van het proefdier, zoals reeds beschreven, wordt één der ureter-catheters op de pH-cuvette aangesloten. Alle clearancebepalingen hebben betrekking op één nier.

Voor het verkrijgen van een regelmatige uitscheidingscurve is een stationaire urineproductie vereist van ongeveer $\frac{1}{2}$ tot 1 ml per minuut. Aanvankelijk hebben wij getracht dit te bereiken met een infuus van fysiologisch zout of een Ringeroplossing. Dit bleek door de anionenuitwisselbaar weer slecht te worden verdragen.

Voor het tot stand brengen van een regelmatige urineproductie hebben we daarom gebruik gemaakt van een langzaam inlopend infuus van mannitol 5%. Voor het bepalen van de clearance van het creatinine wordt de hond subcutaan creatinine gegeven in een dosering van 75 tot 100 mg per kg lichaamsgewicht. Hierdoor ontstaat er gedurende ongeveer een uur een vrij constante creatinine-uitscheiding.

De röntgencontrastmiddelen worden intraveneus toegediend, meestal in een dosering van 200 mg per kg lichaamsgewicht, hetgeen ongeveer overeenkomt met de dosis gebruikt in de kliniek.

Op bepaalde tijden is een bloedmonster afgenomen voor bepaling van de creatinineconcentratie en de totale concentratie van het contrastmiddel. Om de clearance van het contrastmiddel te kunnen berekenen wordt voor de urineconcentraties op de uitscheidingscurve dat punt genomen dat overeenkomt met het tijdstip waarop het bloedmonster is afgenomen. Ook hier moet echter rekening worden gehouden met de naijltijd, zoals reeds was vermeld bij de curve voor de vrije plasmaconcentratie van het contrastmiddel.

De tijd, welke het contrastmiddel nodig heeft om de nier te bereiken, wordt hierbij verwaarloosd. Deze tijd is vrij kort en kan geschat worden op 10-15 seconden.

Bij een latere serie clearanceproeven is, zoals reeds vermeld, de vrije concentratie van het contrastmiddel continu bepaald met behulp van de dialyseplaat. De clearance van het contrastmiddel is berekend volgens de formule:

$$Cl_s = \frac{S_U}{[S]_P}$$

Cl_s is de clearance van het contrastmiddel (ml per minuut),

S_U is de uitgescheiden hoeveelheid contrastmiddel (mg per minuut) en

$[S]_P$ is de totale plasmaconcentratie (mg per ml).

Voor de bepaling van de creatinineclearance is een soortgelijke formule toegepast.

Voor berekening van de gefiltreerde hoeveelheid van het contrastmiddel is de volgende formule gebruikt:

$$S_{ur} = Cl_{cr} \cdot [S]$$

S_{ur} is de gefiltreerde hoeveelheid van het contrastmiddel (mg per minuut),

Cl_{cr} is de clearance van creatinine (ml per minuut), en

$[S]$ is de vrije plasmaconcentratie van het contrastmiddel (mg per ml).

V. RESULTATEN

Op grond van de theoretische beschouwingen van de nierfysiologie en aan de hand van het onderzoek naar de eiwitbinding kan men bepaalde verwachtingen hebben over de uitscheiding van verschillende contrastmiddelen. Alle röntgen-contrastmiddelen zullen in sterke mate glomerulair gefiltreerd worden, met uitzondering van acetrisoate dat een sterke eiwitbinding vertoont. Een tubulaire excretie is van iodopyracet al aangetoond, zoals ook bij de behandeling van de stop-flow methodiek al duidelijk is geworden (figuur 6). Voor de overige contrastmiddelen is eveneens een tubulaire uitscheiding in principe mogelijk, althans, voor zover de negatief geladen groep (COO^-) van essentiële betekenis is, als door Taggart (1956) verondersteld. Ook de rest van het molecuule speelt echter een rol.

Een maat voor de lipoidoplosbaarheid is de olie-water verdelingscoëfficiënt (K_p). Deze is bepaald voor contrastmiddelen, waarvan ons het zuur door de desbetreffende firma's ter beschikking werd gesteld. Tevens is de pK_a -waarde ervan bepaald (tabel 1). Ter vergelijking zijn ook van salicylzuur de K_p en pK_a bepaald. Het salicylzuur, dat een duidelijke teruggiffusie ondergaat in het distale deel van het nefron, onderscheidt zich van de röntgencontrastmiddelen door een duidelijk hogere K_p -waarde. Op grond van de lage K_p -waarde van de contrastmiddelen mag verwacht worden dat de betekenis van een passief tubulair transport gering zal zijn.

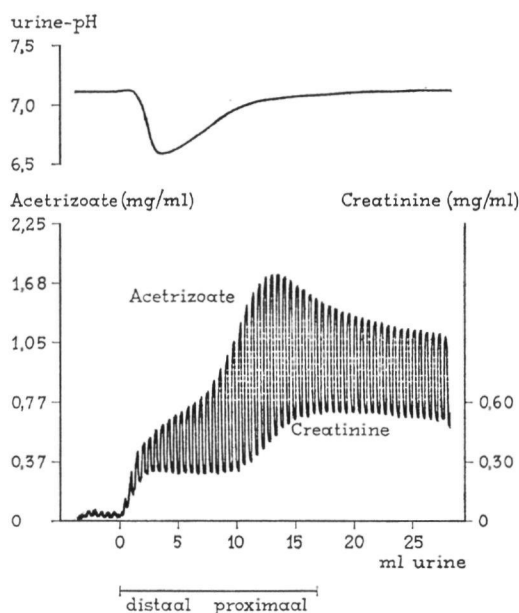
TABEL 1. De K_p -waarden zijn bepaald bij een pH van 3,3 van de waterige fase.

TABLE 1. The K_p values are determined at a pH 3,3 of the aqueous phase.

Substantie	pK_a	K_p chloroform/water
Iodopyracet (Pyelombrine M [®])	3,0	$0,2 \cdot 10^{-2}$
Acetrisoate (Plexombrine [®])	3,2	$1,0 \cdot 10^{-2}$
Diatrisoate (Urografin [®])	3,35	$1,5 \cdot 10^{-4}$
Iodamide (Urombrine [®])	3,7	$0,9 \cdot 10^{-3}$
Salicylzuur	3,3	0,5

1. Stop-flow experimenten

Uit de stop-flow proeven blijkt dat behalve iodopyracet ook acetrizoate een duidelijke uitscheidingsstop vertoont in het gebied van de proximale tubuli, wijzend op een actieve tubulaire uitscheiding (figuur 10). Van de overige röntgencontrastmiddelen wordt iodamide in geringe mate door de proximale tubuli uitgescheiden (figuur 11).



FIGUUR 10: Stop-flow experiment met acetrizoate (Plexombrine®) bij een hond, 20 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus van mannitol 15% gegeven. Urineproductie 6 ml/min/nier. 30 seconden voor opheffen van de ureterblokkade is 200 mg creatinine i.v. gegeven.

Opmerking: er is een actieve tubulaire excretie van acetrizoate. Bij dit experiment is de snelheid van vulling van de spiraal met urine en luchtballen te laag geweest in verhouding tot de spontane urineproductie. Dit resulteert in een te hoge concentratie van acetrizoate in de urine na het gebied van de proximale nefronen.

FIGURE 10: Stop flow experiment with acetrizoate (Plexombrine®) at a dog, 20 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

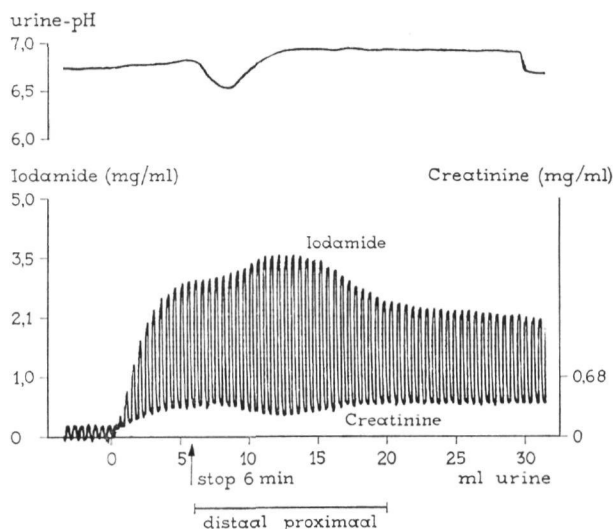
An infusion of mannitol 15% is given. The urine production is 6 ml/min/kidney. 30 seconds before the stop period is terminated 200 mg creatinine is given (i.v.).

Note: there is an active tubular excretion of acetrizoate. In this experiment the speed of filling of the spiral with urine and air bubbles was too low in proportion to the osmotic urine production. This results in a too high concentration of acetrizoate in the urine after the proximal part of the nephrons.

De curven van diatrizoate, metrizoate en iothalamate hebben een vlak verloop, hetgeen betekent dat ze alleen middels een glomerulaire filtratie door de nier worden uitgescheiden (figuur 12, 13 en 14).

Geen enkel röntgencontrastmiddel toont een daling van de concentratie in het gebied van de distale tubuli bij een daling van de urine-pH in dit gebied van het nefron. Ook bij een sterkere daling van de urine-pH, verkregen met een infuus van Na_2SO_4 (50 mg/min), wordt geen tubulaire terugdiffusie gevonden (figuur 15a, b, c, d).

Tenslotte is nog een onderzoek verricht op een mogelijke invloed van de pH van de urine op het actieve tubulaire transport van iodopyracet en acetrizoate.



FIGUUR 11: Stop-flow experiment met iodamide (Urombrine®) bij een hond, 13,5 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

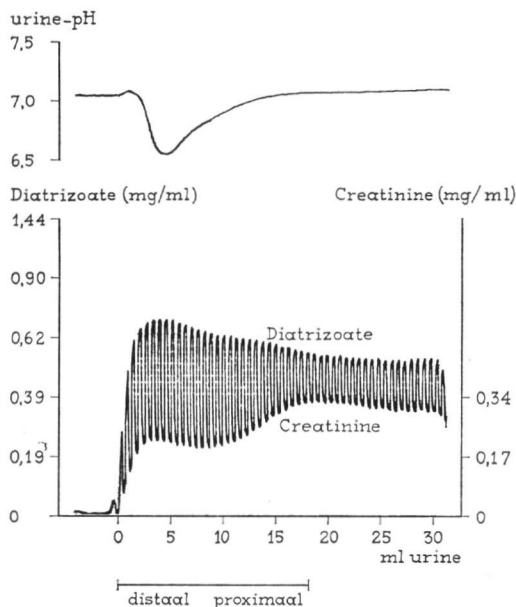
Er is een infuus van mannitol 15% gegeven. Urineproductie: 5 ml/min/nier. 30 seconden voor opheffen van de ureterblokkade is 100 mg creatinine (i.v.) gegeven.

Opmerking: er is een lichte stijging te zien van de concentratie van iodamide in het gebied van de proximale tubuli wijzend op een geringe actieve tubulaire uitscheiding.

FIGURE 11: Stop flow experiment with iodamide (Urombrine®) at a dog, 13.5 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

An infusion of mannitol 15% is given. The urine production is 5 ml/min/kidney. 30 seconds before the stop period is terminated 100 mg creatinine is given (i.v.).

Note: there is a slight increase of the concentration of iodamide in the proximal part of the nephrons, pointing to a slight active tubular excretion.



FIGUUR 12: Stop-flow experiment met diatrizoate (Urografin®) bij een hond, 17 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus van mannitol 15 % gegeven. Urineproductie: $4\frac{1}{2}$ ml/min/nier. 30 seconden voor opheffen van de ureterblokkade is 150 mg creatinine (i.v.) gegeven.

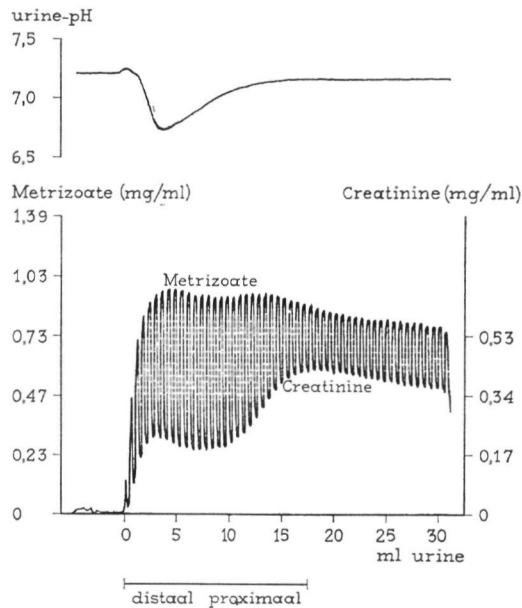
Opmerking: er treedt geen actieve tubulaire excretie van dit contrastmiddel op.

FIGURE 12: Stop flow experiment with diatrizoate (Urografin®) at a dog, 17 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

An infusion of mannitol 15 % is given. The urine production is $4\frac{1}{2}$ ml/min/kidney. 30 seconds before the stop period is terminated 150 mg creatinine is given (i.v.).

Note: there is no active tubular excretion of this contrastmedium.

Nadat een constante uitscheiding van een van deze twee contrastmiddelen is verkregen met behulp van een infuus, is eerst een stop-flow experiment gedaan bij de bestaande urine-pH en vervolgens een tweede stop-flow experiment na het geven van een Na_2SO_4 -infuus. Blijkens deze experimenten wordt geen verandering in de excretiepiek van deze contrastmiddelen gezien (figuur 16a, b en 17a, b).



FIGUUR 13: Stop-flow experiment met metrizoate (Isopaque®) bij een hond, 17 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

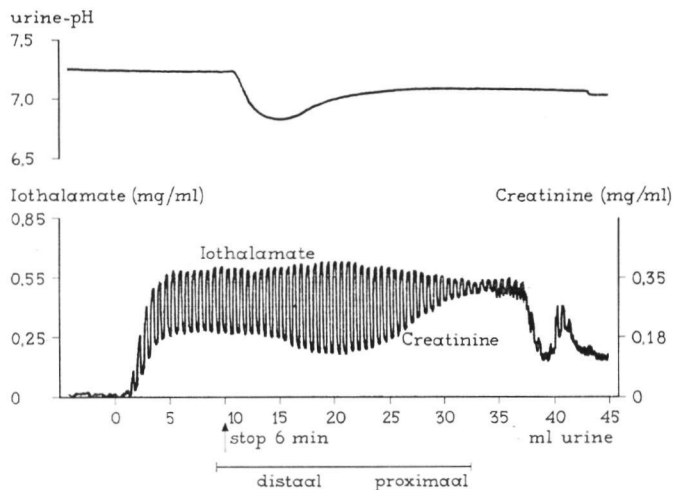
Er is een infuus van mannitol 15% gegeven. Urineproductie: 4 ml/min/nier. 30 seconden voor opheffen van de ureterblokkade is 200 mg creatinine (i.v.) gegeven.

Opmerking: er treedt geen actieve tubulaire excretie van dit contrastmiddel op.

FIGURE 13: Stop flow experiment with metrizoate (Isopaque®) at a dog, 17 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

An infusion of mannitol 15% is given. The urine production is 4 ml/min/kidney. 30 seconds before the stop period is terminated 200 mg creatinine is given (i.v.).

Note: there is no active tubular excretion of this contrastmedium.



FIGUUR 14: Stop-flow experiment met iothalamate (Conray®) bij een hond, 20 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus van mannitol 15% gegeven. Urineproductie: 6 ml/min/nier. 30 seconden voor opheffen van de ureterblokkade is 200 mg creatinine (i.v.) gegeven.

Opmerking: er treedt geen actieve tubulaire excretie van dit contrastmiddel op.

FIGURE 14: Stop flow experiment with iothalamate (Conray®) at a dog, 20 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

An infusion of mannitol 15% is given. The urine production is 6 ml/min/kidney. 30 seconds before the stop period is terminated 200 mg creatinine is given (i.v.).

Note: there is no active tubular excretion of this contrastmedium.

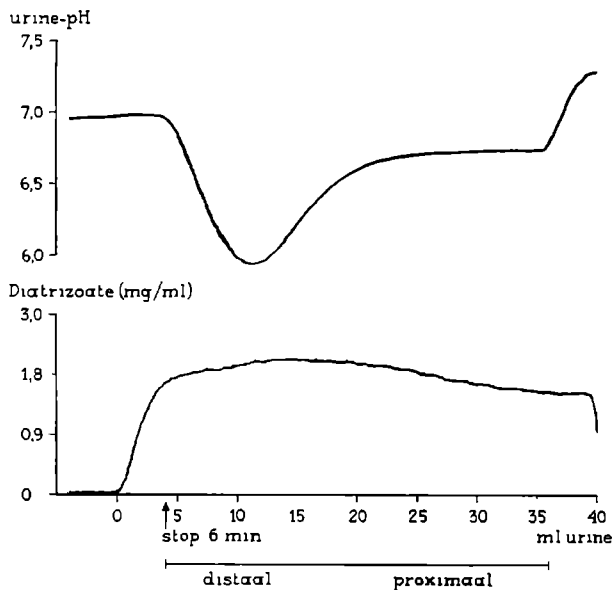


FIG. 15a

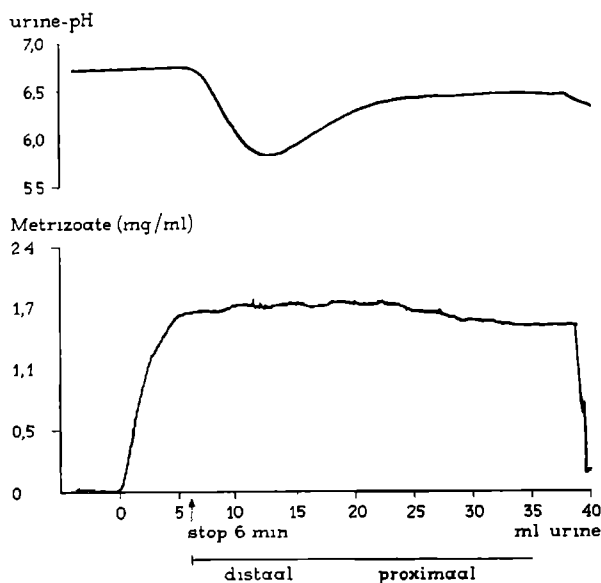


FIG. 15b

FIGUUR 15: Stop-flow experimenten met enkele contrastmiddelen bij een lage pH van de urine bij honden onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie. Er is een infuus van mannitol 15% met Na_2SO_4 (50 mg/min) gegeven.

a. Stop-flow met diatrizoate (Urografin®) bij een hond, 24 kg. Urineproductie 5 ml/min/nier.

b. Stop-flow met metrizoate (Isopaque®) bij een hond, 24 kg. Urineproductie: 5 ml/min/nier.

c. Stop-flow met iothalamate (Conray®) bij een hond, 20 kg. Urineproductie: 5 ml/min/nier.

d. Stop-flow met iodamide (Urombrine®) bij een hond, 18 kg. Urineproductie: $4\frac{1}{2}$ ml/min/ nier.

Opmerking: geen van de contrastmiddelen toont een teruggdiffusie in het distale deel van het nefron. Doordat Na_2SO_4 is gegeven wordt contrastmiddel van de anionenuitwisselaar verdrongen, zodat de creatinine-uitscheiding niet kan worden geregistreerd.

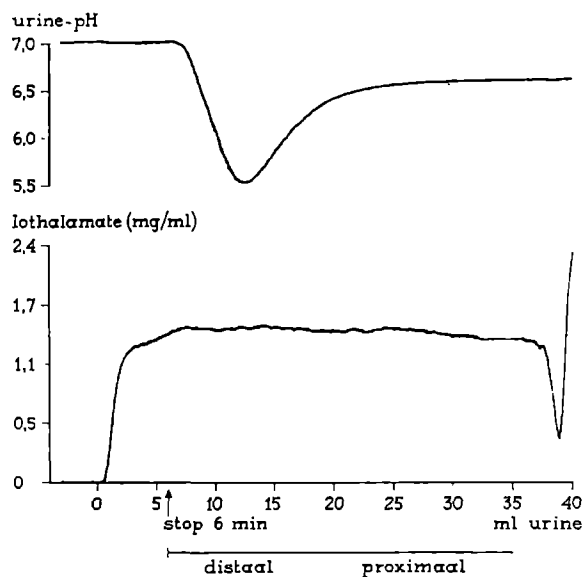


FIG. 15c

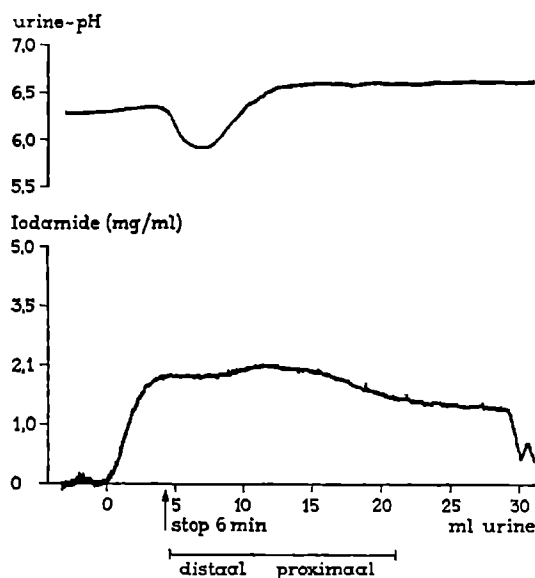


FIG. 15d

FIGURE 15: Stop flow experiments with some contrastmedia at a low pH of the urine at dogs under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.). An infusion of mannitol 15% with Na_2SO_4 (50 mg/min) is given.

- Stop flow with diatrizoate (Urografin®) at a dog, 24 kg. The urine production is 5 ml/min/kidney.
 - Stop flow with metrizoate (Isopaque®) at a dog, 24 kg. The urine production is 5 ml/min/kidney.
 - Stop flow with iothalamate (Conray®) at a dog, 20 kg. The urine production is 5 ml/min/kidney.
 - Stop flow with iodamide (Urombrine®) at a dog, 18 kg. The urine production is $4\frac{1}{2}$ ml/min/kidney.
- Note: there is no back-diffusion of these contrastmedia in the distal part of the nephrons. In these experiments the creatinine excretion could not be registered. In the presence of SO_4^{--} these ions are exchanged against contrastmedium molecules in the anion exchanger.

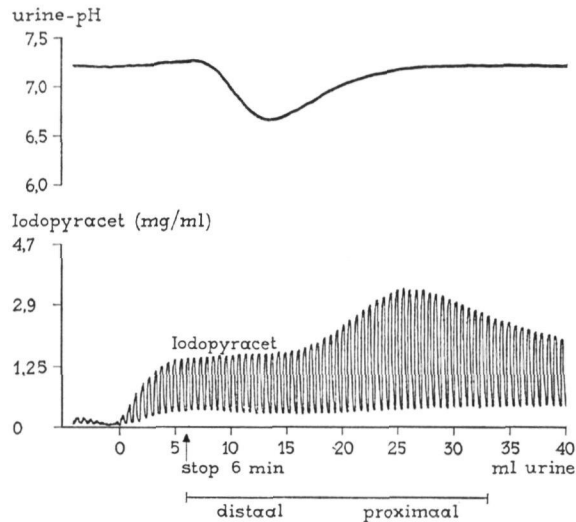


FIG. 16a

FIGUUR 16: Stop-flow experiment met iodopyracet (Pyelombrine M[®]) bij een hond, 24 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus van mannitol 15% gegeven. Urineproductie: 5 ml/min/nier. Er is tevens een infuus van iodopyracet (15 mg/min) gegeven.

a. Experiment vóór het geven van Na₂SO₄.

b. Experiment tijdens het geven van Na₂SO₄ (50 mg/min).

Opmerking: de toename in de concentratie van iodopyracet in het gebied van de proximale tubuli is bij beide experimenten nagenoeg gelijk. Er treedt geen teruggifusie op in het distale deel van de nefronen.

Doordat Na₂SO₄ is gegeven, wordt contrastmiddel van de anionenuitwisselaar verdrongen waardoor de creatinine curve in figuur b niet meer te beoordelen is.

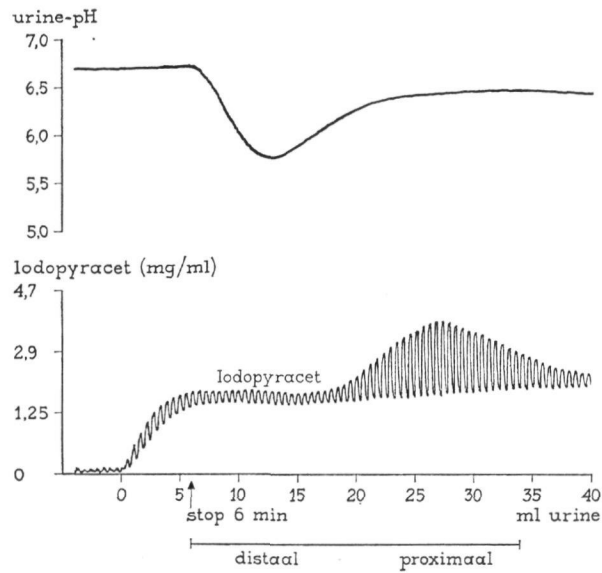


FIG. 16b

FIGURE 16: Stop flow experiment with iodopyracet (Pyelombrine M®) at a dog, 24 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

An infusion of mannitol 15% is given. The urine production is 5 ml/min/kidney. There is also given an infusion of iodopyracet (15 mg/min).

- a. Experiment before an infusion of Na_2SO_4 .
- b. Experiment during an infusion of Na_2SO_4 (50 mg/min).

Note: the increase of the concentration of iodopyracet in the proximal part of the nephrons is nearly the same in both experiments. There is no back-diffusion of this contrastmedium in the distal part of the nephrons. After giving Na_2SO_4 the contrastmedium is replaced from the anion exchanger, so that the curve of creatinine in figure b is not valuable.

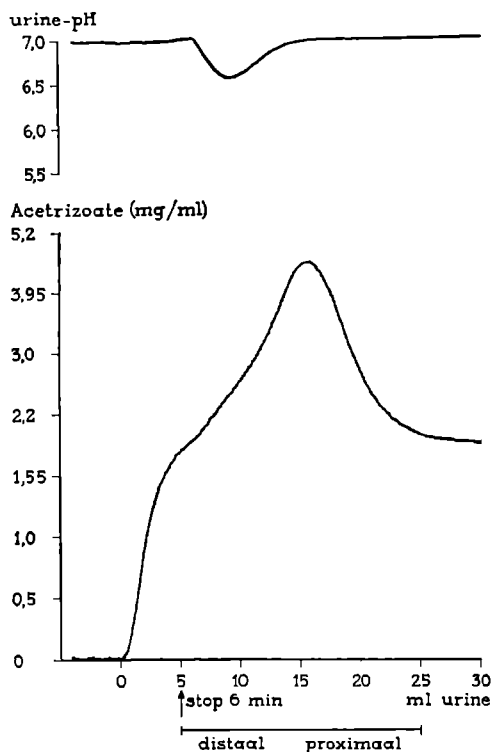


FIG. 17a

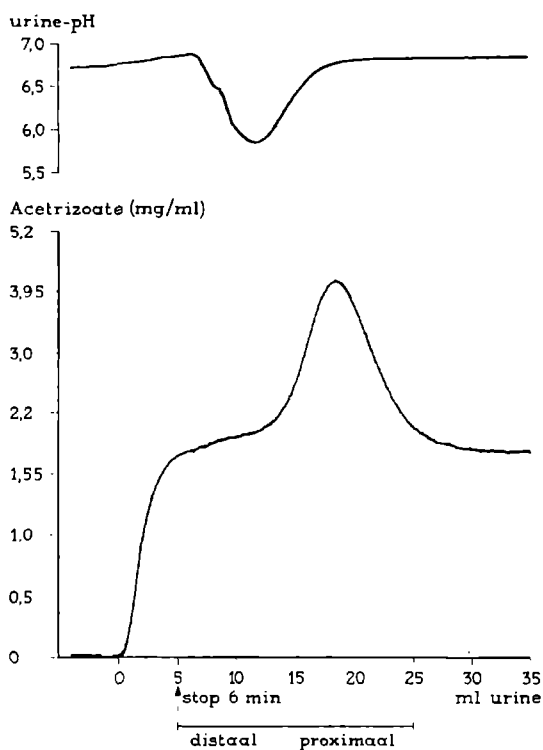


FIG. 17b

FIGUUR 17: Stop-flow experiment met acetrizoate (Plexombrine®) bij een hond, 18 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus van mannitol 15% gegeven. Urineproductie: 6 ml/min/nier. Er is tevens een infuus van acetrizoate (15 mg/min) gegeven.

a. Experiment vóór het geven van Na_2SO_4 .

b. Experiment tijdens het geven van Na_2SO_4 (50 mg/min).

Opmerking: de toename in de concentratie van acetrizoate in het gebied van de proximale tubuli is bij beide experimenten nagenoeg gelijk. Er treedt geen terugdiffusie op in het distale deel van de nefronen.

FIGURE 17: Stop flow experiment with acetrizoate (Plexombrine®) at a dog, 18 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

An infusion of mannitol 15% is given. The urine production is 6 ml/min/kidney. There is also given an infusion of acetrizoate (15 mg/min).

a. Experiment before an infusion of Na_2SO_4 .

b. Experiment during an infusion of Na_2SO_4 (50 mg/min).

Note: the increase in the concentration of acetrizoate in the proximal part of the nephrons is nearly the same in both experiments. There is no back-diffusion of this contrastmedium in the distal part of the nephrons.

2. Clearance

De resultaten van de clearance-experimenten met de verschillende contrastmiddelen stemmen grotendeels overeen met de gegevens verkregen met de stop-flow proeven. Van alle contrastmiddelen is een uitscheidingscurve opgesteld waarvan de gegevens ontleend zijn aan 3 tot 5 hondenexperimenten, die in de verschillende tabellen zijn opgenomen. Dankzij de continue registratie kon een groot aantal punten worden uitgezet. De gemiddelde waarden uit deze experimenten zijn omgerekend naar een hond van 15 kg.

Op de ordinaat van het diagram is de uitscheiding uitgezet in mg per minuut en op de abscis de totale plasmaconcentratie in mg/ml. Uit het quotiënt van de uitgescheiden hoeveelheid röntgencontrastmiddel en de bijbehorende totale plasmaconcentratie is de clearance uit het diagram af te lezen.

TABEL 2. Gegevens uit de clearance-experimenten met iodopyracet (Pyelombrine M®) gedaan bij honden onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie. Er is een infuus van mannitol 5 % gegeven. Dosering van iodopyracet: 200 mg/kg. p.i.: post injectionem.

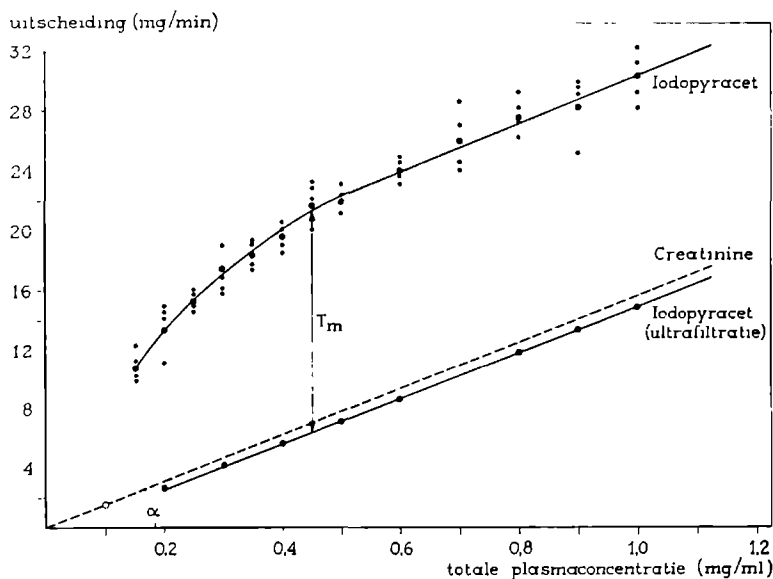
TABLE 2. Data from the clearance experiments with iodopyracet (Pyelombrine M®) done at dogs under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.). An infusion of mannitol 5 % is given. The dosage of iodopyracet is 200 mg/kg.

Hond	Tijd p.i.	Creatinine			Urine- pH	Iodopyracet					
		Urine mg/min	Plasma mg/ml	Clear- ance		Urine mg/min	Plasma (totaal) mg/ml	Clear- ance	Plasma (vrij) mg/ml	Gefil- treerd mg/min	Tubulaire excretie mg/min
732 17 kg	8'	1,20	0,068	17,6	7,3	30,0	0,84	35,6	0,67	11,7	18,3
	12,5'	1,20	0,072	16,7	7,1	25,8	0,54	47,0	0,43	9,4	16,4
	16'	1,20	0,066	18,1	7,1	22,8	0,37	60,5	0,30	5,5	17,3
	28'	1,15	0,063	19,0	7,2	17,1	0,22	75,0	0,18	3,3	13,8
742 16 kg	8'	1,84	0,092	20,0	6,8	28,7	0,73	39,3	0,58	11,7	17,0
	15'	1,84	0,071	25,9	6,5	22,4	0,38	58,3	0,30	6,1	16,3
	26'	1,53	0,078	19,4	6,5	16,7	0,23	70,3	0,19	3,8	12,9
	41'	1,47	0,074	19,7	6,5	10,1	0,14	71,3	0,11	2,1	8,0
783 27 kg	10'	1,46	0,083	17,4	7,1	32,4	0,49	66,1	0,49	8,6	23,8
	17'	1,80	0,082	21,8	7,1	27,0	0,39	69,2	0,39	8,5	18,5
	26'	1,76	0,092	19,1	7,0	22,9	0,29	78,9	0,29	5,5	17,4
	45'	2,02	0,091	22,1	6,9	16,8	0,19	88,4	0,17	3,8	13,0
822 20 kg	10'	2,55	0,095	26,6	6,8	27,9	0,71	39,0	0,60	15,9	12,0
	19,5'	2,25	0,096	23,4	6,9	20,9	0,43	47,8	0,39	9,3	11,6
	31'	1,80	0,090	20,0	6,8	17,6	0,28	61,9	0,26	5,2	12,4
	49,5'	1,50	0,091	16,5	6,8	13,0	0,13	97,0	0,14	2,3	10,7

a. Iodopyracet

Iodopyracet toont bij alle honden een duidelijke tubulaire uitscheiding (tabel 2). De T_m van dit contrastmiddel is ongeveer 1 mg (16×10^{-4} mmol) per minuut per kg lichaamsgewicht per nier. Het tubulaire maximum wordt bereikt bij een plasmaconcentratie van ongeveer 0,45 mg/ml.

Het gemiddelde tubulaire maximum is berekend uit de gegevens verkregen met 4 hondenexperimenten en is af te lezen uit figuur 18, waarin voor een hond van



FIGUUR 18: Verband tussen uitscheiding en totale plasmaconcentratie van iodopyracet (Pyelombrine M®) in vergelijking met creatinine.

De curven zijn samengesteld uit de uitscheidingscurven en plasmacurven van de honden uit tabel 2, na omrekening voor een hond van 15 kg.

Opmerking: iodopyracet toont een duidelijke tubulaire uitscheiding met een T_m van ongeveer 1 mg/min/kg/nier. De T_m wordt bereikt bij een totale plasmaconcentratie van ongeveer 0,45 mg/ml.

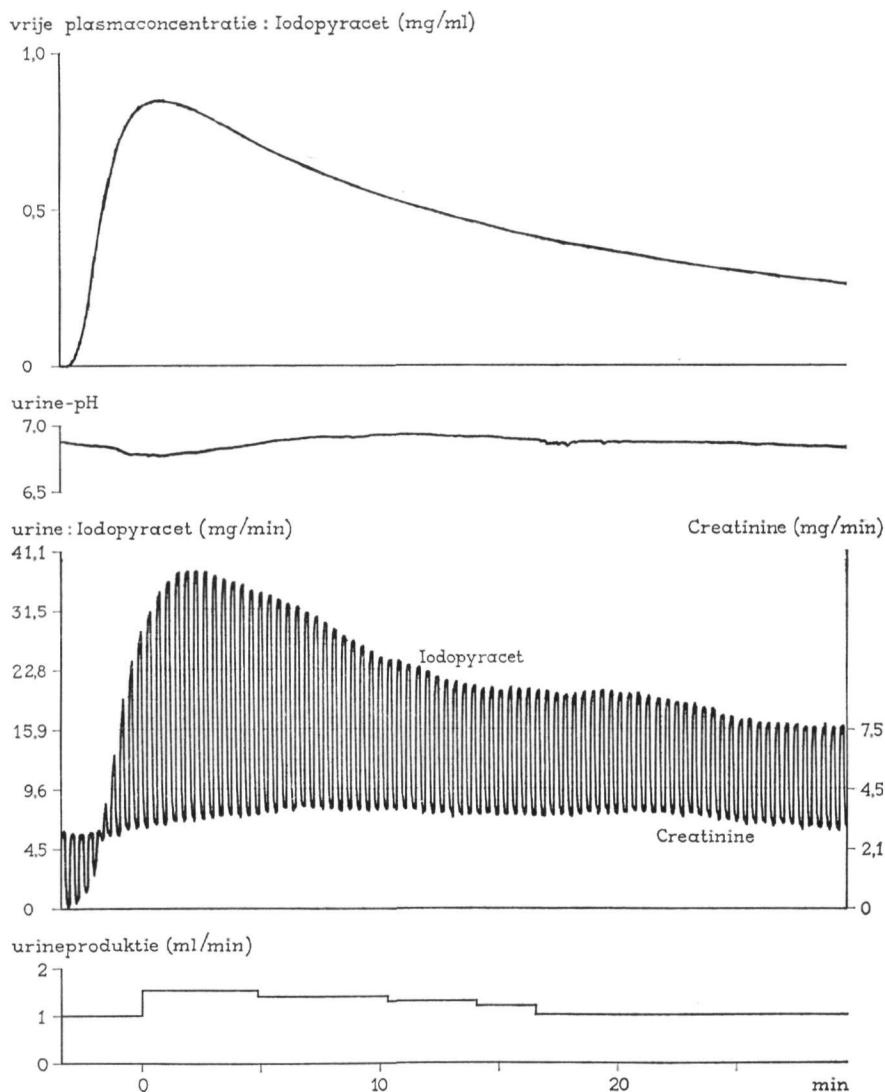
De tangens van de hoek ($\text{tg } \alpha$), welke de creatininecurve maakt met de abscis, is gelijk aan de glomerulaire filtratiesnelheid.

FIGURE 18: Relation between the excretion and total plasma concentration of iodopyracet (Pyelombrine M®) in comparison with creatinine.

The lines are composed of the excretion curves and total plasma concentration curves of the dogs in table 2, after normalizing for a 15 kg dog.

Note: iodopyracet shows a tubular excretion with a T_m of about 1 mg/min/kg/kidney. This T_m is reached at a total plasma concentration of about 0.45 mg/ml.

The tangent of the angle ($\text{tg } \alpha$), which the line of creatinine makes with the abscissa, is equal to the glomerular filtration rate.



FIGUUR 19: Clearance-experiment met iodopyracet (Pyelombrine M®) bij een hond, 20 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie. Er is een infuus van mannitol 5% gegeven. Dosering van iodopyracet: 200 mg/kg. Opmerking: na intraveneuze injectie van iodopyracet treedt een lichte daling op van de urine-pH en een stijging van de urineproductie.

FIGURE 19. Clearance experiment with iodopyracet (Pyelombrine M®) at a dog, 20 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.). An infusion of mannitol 5% is given. Note: after intravenous injection of iodopyracet there is a slight decrease of the pH of the urine and a slight increase in the urine production.

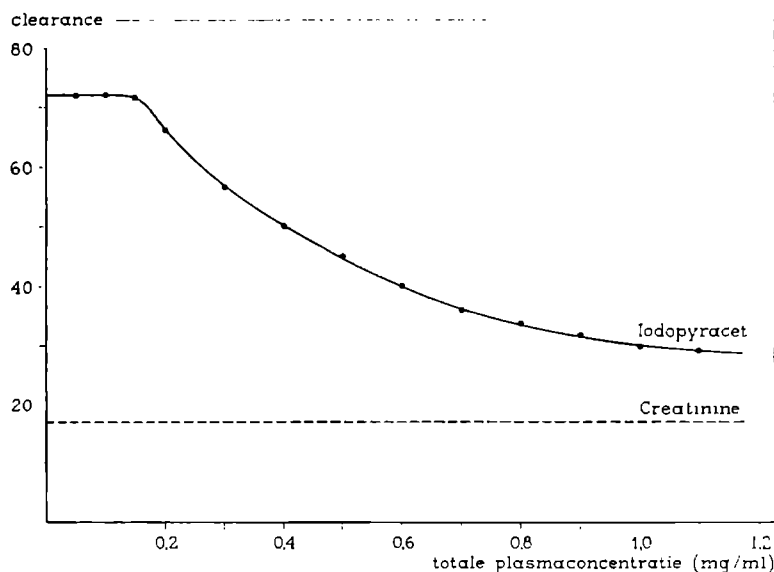
15 kg zijn uitgezet de uitscheiding van iodopyracet en creatinine berekend op basis van de totale plasmaconcentratie en de hoeveelheid iodopyracet welke glomerulair gefiltreerd wordt.

Bij een plasmaconcentratie van 1 mg/ml bedraagt de tubulaire uitscheiding bijna 50% van het totaal.

Bij een intraveneuze injectie van 200 mg per kg wordt deze plasmaconcentratie gemiddeld al na 8 minuten bereikt. Er mag dus worden aangenomen dat bij de lagere doseringen, zoals door ons in de kliniek zullen worden gegeven, ook een grote fractie van de totale uitgescheiden hoeveelheid iodopyracet op rekening komt van het actieve tubulaire transport.

Uit figuur 18 valt, gezien het verloop van de creatininecurve en de totale uitscheidingscurve van iodopyracet, nog af te leiden dat bij de gebruikte concentraties geen depressie van het tubulaire transport optreedt, en dus ook niet bij de klinisch te verwachten bloedconcentraties van dit contrastmiddel.

De geregisteerde vrije bloedconcentratie, urine-pH, urineconcentratie van



FIGUUR 20: Verband tussen de totale plasmaconcentratie van iodopyracet (Pyelombrine M®) en de clearance in vergelijking met creatinine.

FIGURE 20: Relation between the total plasma concentration of iodopyracet (Pyelombrine M®) and the clearance in comparison with creatinine.

iodopyracet en creatinine, en de urineproductie van één van de honden zijn in figuur 19 afgebeeld. Intraveneuze injectie van iodopyracet veroorzaakt een geleidelijke daling van de urine-pH en een toename in de urineproductie.

Tenslotte is van dit contrastmiddel het verband vastgesteld tussen de totale plasmaconcentratie en de clearance (figuur 20). Uit deze figuur blijkt dat pas bij een totale plasmaconcentratie van 0,15 mg/ml de clearance van iodopyracet niet verder toeneemt.

Voorts valt op dat in deze figuur de clearance van iodopyracet de clearance van creatinine sterker nadert dan op grond van figuur 18 verwacht zou worden.

b. *Acetrizoate*

Bij de clearance-experimenten met acetrizoate vindt men wederom een bijdrage van het actieve tubulaire transport in de totale uitscheiding (tabel 3), doch niet in die mate welke de stop-flow gegevens zouden doen vermoeden. Gemiddeld wordt een T_m gevonden van 0,22 mg (33×10^{-5} mmol) per minuut per kg per nier. Dit is aanmerkelijk lager dan bij iodopyracet. Het tubulaire maximum is reeds bereikt bij een plasmaconcentratie van ongeveer 0,1 mg/ml (figuur 21). Bij uitzetting van de plasmaconcentratie van acetrizoate tegen de uitscheiding per minuut valt een wat merkwaardig verloop van de excretiecurve op. Bij de hogere totale plasmaconcentraties ligt de clearance onder de creatinineclearance, terwijl bij een totale plasmaconcentratie rond de 0,3 mg/ml de clearance hoger wordt dan van creatinine. Ook in de figuur waarin de clearance is uitgezet tegen de totale plasmaconcentratie komt dit tot uiting (figuur 22). Dit effect wordt ons inziens enerzijds veroorzaakt door de verandering in de procentuele eiwitbinding, welke immers concentratie-afhankelijk is, en anderzijds door het bestaan van een lage tubulaire uitscheiding van dit contrastmiddel. Bij alleen optreden van eiwitbinding wordt voor acetrizoate een clearance (ultrafiltratie) verwacht die bij hogere concentratie toenemend achterblijft bij de creatinineclearance (figuur 21). Bij combinatie met een tubulaire uitscheiding zal, na bereiken van T_m , de clearancecurve voor acetrizoate die van creatinine snijden daar, waar de waarde voor de tubulaire uitscheiding juist compenseert voor het achterblijven van de ultrafiltratie. Dit werd inderdaad experimenteel gevonden (figuur 21).

Bekijken we nu de clearanceverhoudingen bij een lage plasmaconcentratie bv. 0,2 mg/ml. Bij deze totale concentratie van acetrizoate is 50% aan plasma-eiwitten gebonden. Bij een gegeven creatinineclearance van 21,9 ml zal 2,19 mg gefiltreerd worden. Aan tubulaire uitscheiding komt hier, blijkens de curve,

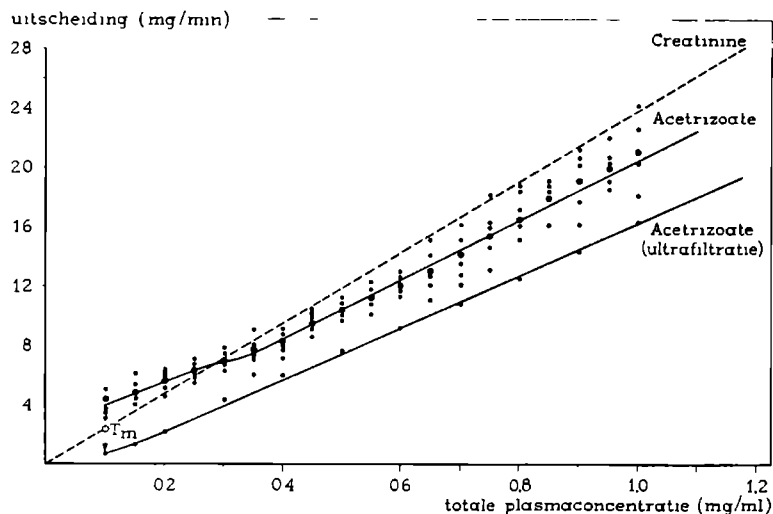
3,3 mg per minuut bij, hetgeen een totale uitscheiding oplevert van bijna 5,5 mg per minuut. Hierdoor wordt de clearance hoger dan van creatinine.

In het ideale geval zou ook voor acetrizoate een rechte lijn te verwachten zijn; in dit opzicht wijken de experimentele resultaten in geringe mate af. Het blijkt namelijk dat in het gebied van de curve liggend boven de creatinineclearance de tubulaire uitscheiding maximaal 3,3 is, terwijl in het gebied beneden de creatinineclearance de tubulaire uitscheiding niet hoger is dan 2,2 mg per minuut. Men zou dit verschil in tubulaire uitscheiding kunnen verklaren door aan te

TABEL 3: Gegevens uit de clearance-experimenten met acetrizoate (Plexombrine®) gedaan bij honden onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie. Er is een infuus van mannitol 5 % gegeven. Dosering van acetrizoate: 200 mg/kg.

TABLE 3: Data from the clearance experiments with acetrizoate (Plexombrine®) done at dogs under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.). An infusion of mannitol 5 % is given. The dosage of acetrizoate is 200 mg/kg.

Hond	Tijd p.i.	Creatinine				Acetrizoate					
		Urine mg/min	Plasma mg/ml	Clear- ance	Urine- pH	Urine (totaal) mg/min	Plasma mg/ml	Clear- ance	Plasma (vrij) mg/ml	Gefil- treerd mg/min	Tubulaire excretie mg/min
781 16,5 kg	7'	2,40	0,120	19,9	6,9	17,8	0,92	19,4	0,54	10,9	6,9
	13'	2,40	0,119	20,1	6,9	14,0	0,67	20,9	0,36	7,3	6,7
	21,5'	2,20	0,120	18,3	6,8	10,2	0,50	20,4	0,25	4,6	5,6
	33'	2,00	0,116	17,1	6,7	8,0	0,36	22,2	0,17	2,9	5,1
7104 18 kg	10'	1,84	0,063	29,1	7,0	22,9	1,04	22,0	0,74	21,5	1,4
	16'	1,69	0,066	25,4	6,9	18,2	0,84	21,6	0,54	13,7	4,5
	32'	1,69	0,065	25,7	6,9	12,6	0,63	19,9	0,32	8,5	4,1
	47,5'	1,03	0,058	17,8	6,9	9,4	0,49	19,2	0,21	3,8	5,6
7111 14 kg	7'	3,26	0,104	31,1	7,2	25,3	0,97	26,0	0,76	23,8	1,5
	14,5'	3,69	0,109	33,6	7,1	16,1	0,73	21,8	0,46	15,6	0,5
	29'	2,57	0,108	23,7	7,1	9,6	0,56	16,9	0,27	6,5	3,1
	36,5'	1,82	0,111	16,4	6,9	8,0	0,44	18,1	0,21	3,6	4,4
5113 16 kg	4,5'	1,70	0,062	27,4	6,9	21,6	1,01	21,4	0,75	20,4	1,2
	15'	2,20	0,070	31,4	6,8	12,5	0,52	24,1	0,35	10,9	1,6
	45'	2,20	0,070	31,4	6,8	6,1	0,29	21,0	0,17	5,4	0,7
	107'	1,55	0,055	28,1	6,7	2,9	0,11	26,0	0,03	0,9	2,0
533 17 kg	4,5'	1,10	0,046	23,9	7,5	20,0	0,94	21,2	0,72	17,3	2,7
	13'	1,10	0,041	26,8	7,4	11,3	0,45	25,1	0,30	7,8	3,5
	45'	1,05	0,039	26,9	7,3	5,5	0,14	39,7	0,05	1,4	4,1
	70'	0,95	0,037	25,9	7,3	3,3	0,06	56,0	0,01	0,3	3,0



FIGUUR 21: Verband tussen uitscheiding en totale plasmaconcentratie van acetizoate (Plexombrine®) in vergelijking met creatinine.

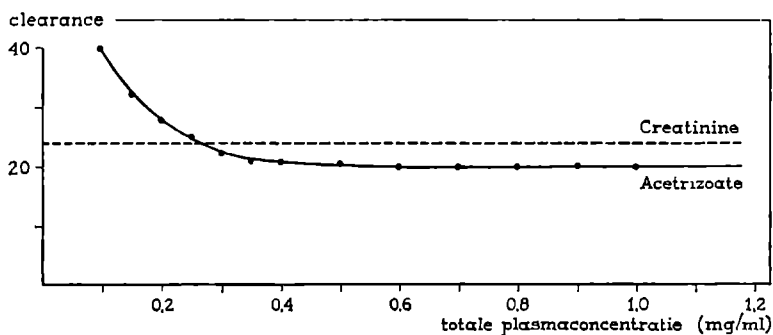
De curven zijn samengesteld uit de uitscheidingscurven en plasmacurven van de honden uit tabel 3, na omrekening voor een hond van 15 kg.

Opmerking: acetizoate toont een lage tubulaire uitscheiding met een T_m van ongeveer 0,22 mg/min/kg/nier. De T_m wordt vermoedelijk bereikt bij een totale plasmaconcentratie van 0,1 mg/ml.

FIGURE 21: Relation between the excretion and total plasma concentration of acetizoate (Plexombrine®) in comparison with creatinine.

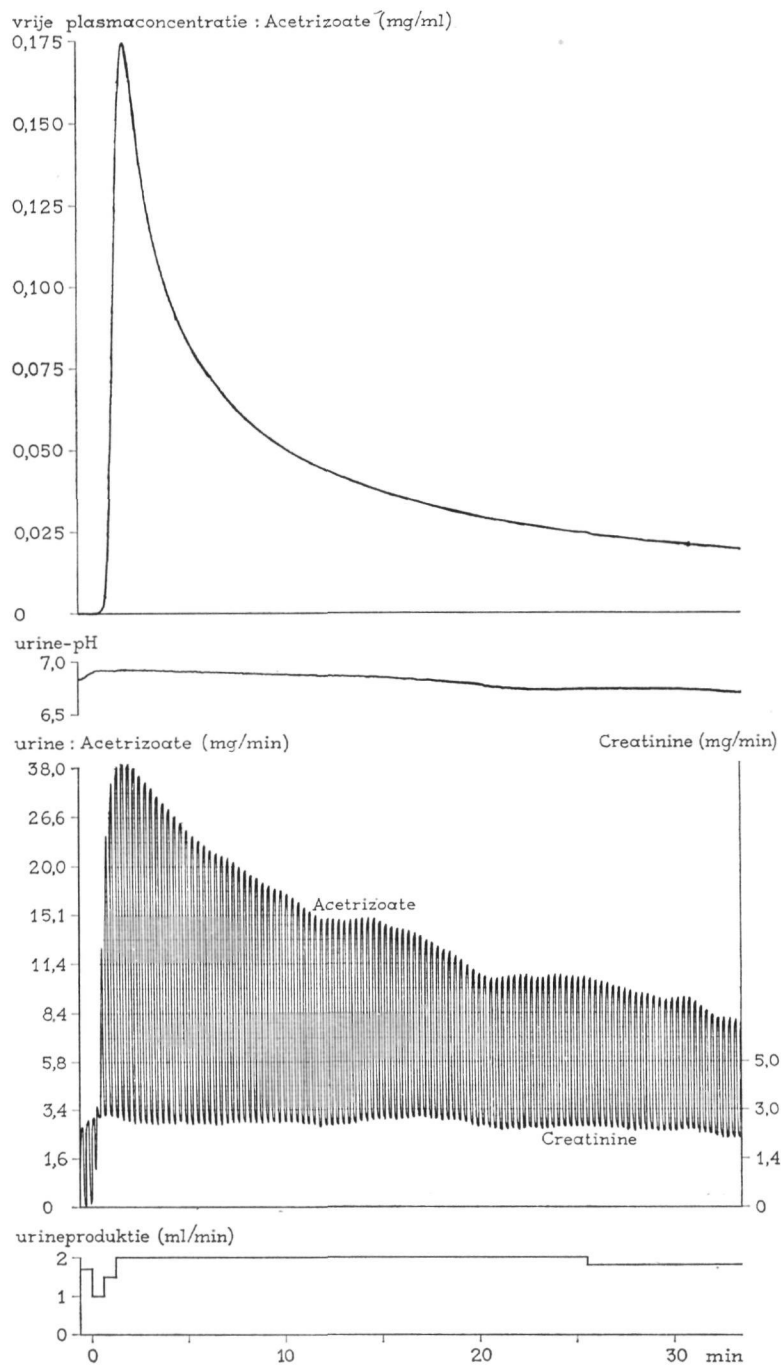
The lines are composed of the excretion and total plasma concentration curves from the dogs in table 3, after normalizing for a 15 kg dog.

Note: acetizoate shows a low tubular excretion with a T_m of about 0.22 mg/min/kg/kidney. This T_m is probably reached at a total plasma concentration of 0.1 mg/ml.



FIGUUR 22: Verband tussen de totale plasmaconcentratie van acetizoate (Plexombrine®) en de clearance in vergelijking met creatinine.

FIGURE 22: Relation between the total plasma concentration of acetizoate (Plexombrine®) and the clearance in comparison with creatinine.



nemen dat bij hogere concentraties er een terugdiffusie plaatsvindt van acetrisoate.

Aangezien een terugdiffusie van acetrisoate in het distale deel van het nefron bij de stop-flow experimenten niet is gevonden, zou een terugdiffusie in de proximale tubuli moeten worden aangenomen. Deze mogelijkheid bestaat er in principe wel, zoals voor furosemide (pK_a 3,9) met *in vivo* experimenten is aangetoond (Deetjen 1966), echter alleen pas bij een pH van de perfusievloeistof ver beneden de fysiologische pH.

De uitscheiding van acetrisoate gaat gepaard met een verhoogde diurese en enige daling van de urine-pH (figuur 23).

c. Metrisoate en iodamide

Deze beide contrastmiddelen hebben een clearance welke even boven de creatinineclearance ligt (figuur 24 en 25).

Metrisoate en iodamide worden niet aan eiwit gebonden en worden derhalve sterk glomerulair gefiltreerd. Daarnaast wordt, zoals althans voor iodamide bij de stop-flow tot uiting is gekomen, een geringe tubulaire excretie gevonden. Een tubulair maximum hebben wij bij deze contrastmiddelen niet kunnen vaststellen.

De tubulaire uitscheiding neemt toe met de concentratie in het plasma. Echter bij een plasmaconcentratie van 1 mg/ml is de bijdrage van de tubulaire uitscheiding ongeveer 10%. Van enige betekenis is deze bijdrage niet.

In tabel 4 en 5 zijn de gegevens opgenomen van hondenexperimenten met respectievelijk metrisoate en iodamide. Metrisoate heeft een lichte invloed op de urineproductie, welke iets toeneemt, terwijl de urine-pH een daling vertoont. Het effect van iodamide op de urine-pH en urineproductie lijkt iets geringer.

◀ **FIGUUR 23:** Clearance-experiment met acetrisoate (Plexombrine®) bij een hond, 16,5 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus van mannitol 5% gegeven.

Dosering van acetrisoate: 200 mg/kg.

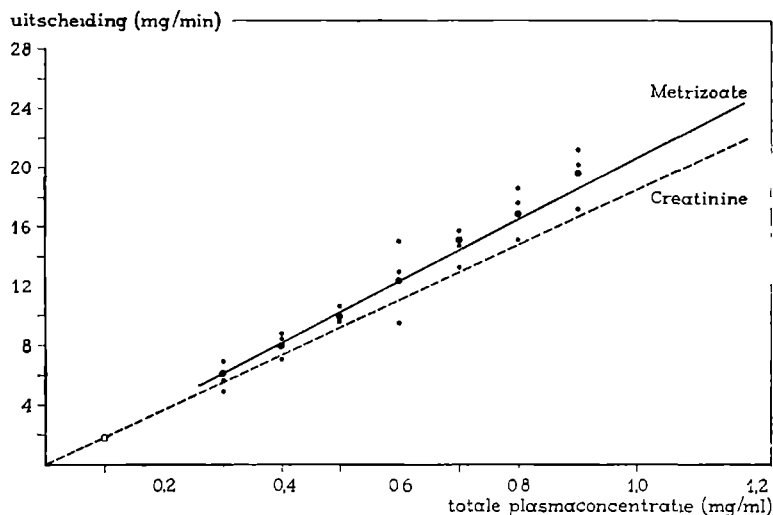
Opmerking: na intraveneuze injectie van acetrisoate treedt een lichte daling op van de urine-pH en enige stijging van de urineproductie.

FIGURE 23: Clearance experiment with acetrisoate (Plexombrine®) at a dog, 16,5 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

An infusion of mannitol 5% is given.

The dosage of acetrisoate is 200 mg/kg.

Note: after intravenous injection of acetrisoate there is a slight decrease of the pH of the urine and a slight increase in the urine production.



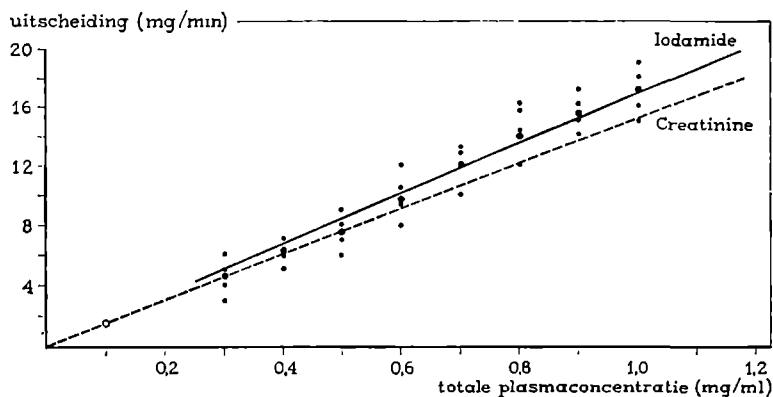
FIGUUR 24: Verband tussen uitscheiding en totale plasmaconcentratie van metrizoate (Isopaque®) in vergelijking met creatinine. De curven zijn samengesteld uit de uitscheidingscurve en plasmacurve van de honden uit tabel 4, na omrekening voor een hond van 15 kg.

Opmerking: de uitscheidingscurve van metrizoate ligt even boven de creatininecurve. Een T_m wordt niet gevonden.

FIGURE 24: Relation between the excretion and total plasma concentration of metrizoate (Isopaque®) in comparison with creatinine.

The lines are composed of the curves of the excretion and total plasma concentration from the dogs in table 4, after normalizing for a 15 kg dog.

Note: the excretion curve of metrizoate is a little higher than that of creatinine. A T_m is not found.



TABEL 4. Gegevens uit de clearance-experimenten met iodamide (Urombrine®) gedaan bij honden onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie. Er is een infuus van mannitol 5 % gegeven. Dosering van iodamide: 200 mg/kg.

TABLE 4: Data from the clearance experiments with iodamide (Urombrine®) done at dogs under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.). An infusion of mannitol 5 % is given. The dosage of iodamide is 200 mg/kg.

Hond	Tijd p.i.	Creatinine				Iodamide					
		Urine mg/min	Plasma mg/ml	Clear-ance	Urine- pH	Urine mg/min	Plasma (totaal) mg/ml	Clear-ance	Plasma (vrij) mg/ml	Gefil- treerd mg/min	Tubulaire excretie mg/min
610	6'	1,22	0,110	11,1	6,8	13,4	1,03	12,8	1,03	11,5	1,9
14 kg	12,5'	1,36	0,111	12,2	6,7	10,2	0,81	12,5	0,77	9,5	0,7
	25'	1,36	0,111	12,2	6,7	7,6	0,55	13,8	0,55	6,7	0,9
	36'	1,36	0,110	12,3	6,6	5,5	0,44	12,3	0,42	5,3	0,2
720	9'	2,50	0,122	20,5	7,0	19,2	0,74	25,9	0,77	15,4	3,8
24 kg	16,5'	2,50	0,110	22,7	6,9	13,5	0,57	23,7	0,55	12,5	1,0
	28'	2,10	0,110	19,0	6,9	9,5	0,40	23,7	0,43	8,2	1,3
	44'	2,00	0,109	18,3	7,0	6,2	0,33	18,7	0,37	6,8	-
730	7'	1,48	0,097	15,2	7,0	15,9	0,81	19,6	0,80	12,2	3,7
14 kg	12'	1,48	0,109	13,6	7,0	10,3	0,65	15,7	0,62	8,4	1,9
	22'	1,33	0,105	12,6	6,9	6,5	0,49	13,2	0,47	6,0	0,5
	35'	1,33	0,107	12,4	6,9	5,2	0,38	13,8	0,37	4,7	0,5
1130	7,5'	2,05	0,100	20,3	6,5	20,8	1,13	18,4	0,80	16,5	4,3
14 kg	17'	1,95	0,104	18,6	6,4	13,7	0,70	19,4	0,59	11,0	2,7
	29'	2,05	0,105	19,4	6,4	10,2	0,53	19,0	0,46	8,9	1,3
	46,5'	1,84	0,101	18,2	6,4	7,3	0,40	17,9	0,34	6,2	1,1

FIGUUR 25: Verband tussen de uitscheiding en totale plasmaconcentratie van iodamide (Urombrine®) in vergelijking met creatinine. De curven zijn samengesteld uit de uitscheidingscurven en plasmacurven van de honden uit tabel 5, na omrekening voor een hond van 15 kg.

Opmerking: de uitscheidingscurve van iodamide ligt even boven de creatininecurve. Een T_m wordt niet gevonden.

FIGURE 25: Relation between the excretion and total plasma concentration of iodamide (Urombrine®) in comparison with creatinine. The lines are composed of the excretion and total plasma concentration curves from dogs in table 5, after normalizing for a 15 kg dog.

Note: the excretion curve of iodamide is a little higher than that of creatinine. A T_m is not found.

TABEL 5: Gegevens uit de clearance-experimenten met metrizoate (Isopaque®) gedaan bij honden onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus van mannitol 5 % gegeven. Dosering van metrizoate : 200 mg/kg.

TABLE 5: Data from the clearance experiments with metrizoate (Isopaque®) done at dogs under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

An infusion of mannitol 5 % is given. The dosage of metrizoate is 200 mg/kg.

Hond	Tijd p.i.	Creatinine				Metrizoate					
		Urine mg/min	Plasma mg/ml	Clear-ance	Urine- pH	Urine mg/min	Plasma (totaal) mg/ml	Clear-ance	Plasma (vrij) mg/ml	Gefil- treerd mg/min	Tubulaire excretie mg/min
920 17 kg	12'	2,00	0,123	16,1	7,2	13,4	0,83	16,0	0,83	13,4	—
	18'	2,20	0,146	14,9	7,1	11,6	0,68	17,0	0,77	11,4	0,2
	34'	1,80	0,123	14,6	7,2	6,7	0,51	13,1	0,46	6,7	—
	45,5'	1,70	0,119	14,2	7,2	5,4	0,40	13,4	0,38	5,3	0,1
930 21 kg	6'	3,45	0,104	32,9	7,0	36,7	1,09	33,5	0,99	32,7	4,0
	16'	3,67	0,107	32,9	6,9	21,8	0,61	35,5	0,56	19,2	2,6
	28,5'	3,43	0,107	32,0	6,9	14,2	0,36	39,0	0,38	12,3	1,9
	38,5'	3,25	0,107	30,3	6,9	10,9	0,32	33,3	0,32	9,6	1,3
940 20 kg	7'	2,81	0,124	22,6	6,8	33,6	1,04	32,2	1,18	26,9	6,7
	15'	2,87	0,123	23,2	6,9	21,2	0,75	28,2	0,83	19,4	1,8
	28'	2,73	0,121	22,4	6,8	14,2	0,52	27,1	0,54	12,2	2,0
	40'	2,27	0,113	20,0	7,0	9,4	0,44	21,0	0,43	8,8	0,6

d. Diatrizoate en iothalamate

De clearance van diatrizoate en die van iothalamate zijn nagenoeg gelijk aan de clearance van creatinine (tabel 6 en 7 en figuur 26 en 27). Evenals bij de stop-flow experimenten wordt geen tubulaire uitscheiding van deze contrastmiddelen gevonden.

Dat de clearance van deze contrastmiddelen niet volledig overeenkomt met de creatinineclearance, is mogelijk te wijten aan de paar procent eiwitbinding welke kan worden gevonden. Evenals de overige contrastmiddelen hebben ook diatrizoate en iothalamate enige diuretische werking. Diatrizoate en iothalamate zijn dus in principe geschikt om de glomerulaire filtratiesnelheid te bepalen.

TABEL 6: Gegevens uit de clearance-experimenten met diatrizoate (Urografin®) gedaan bij honden onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie. Er is een infuus van mannitol 5 % gegeven. Dosering van diatrizoate: 200 mg/kg.

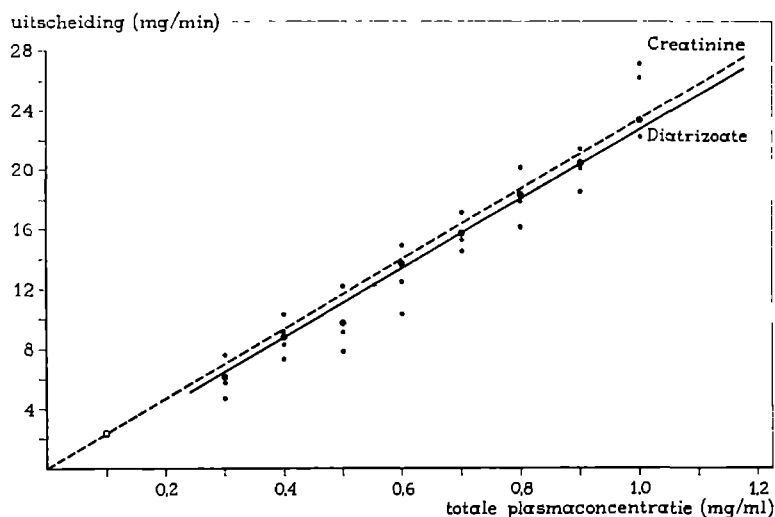
TABLE 6: Data from the clearance experiments with diatrizoate (Urografin®) done at dogs under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.). An infusion of mannitol 5 % is given. The dosage of diatrizoate is 200 mg/kg.

Hond	Tijd p.i.	Creatinine			Urine-pH	Diatrizoate		
		Urine mg/min	Plasma mg/ml	Clearance		Urine mg/min	Plasma mg/ml	Clearance
751 18 kg	8'	1,50	0,06	25	7,2	23,7	1,11	21,4
	14,5'	1,50	0,068	22	7,1	18,0	0,71	25,4
	26,5'	1,45	0,063	23	7,1	12,3	0,54	22,5
	39'	1,35	0,056	24	7,2	9,6	0,38	24,9
753 25 kg	6,5'	2,17	0,079	27,2	7,1	28,3	1,30	21,8
	16,5'	1,86	0,081	22,8	6,9	17,4	0,60	29,0
	34'	2,17	0,091	23,7	7,0	10,2	0,45	22,6
	54'	1,39	0,091	15,3	7,0	7,3	0,36	20,3
5123 16 kg	10,5'	2,68	0,065	41,2	7,0	29,9	0,86	34,6
	20,5'	2,49	0,064	38,8	7,0	20,8	0,60	34,7
	46'	2,30	0,062	37,1	7,0	14,0	0,42	32,6
	62'	2,49	0,066	37,7	7,0	6,8	0,19	34,6

TABEL 7: Gegevens uit de clearance-experimenten met iothalamate (Conray®) gedaan bij honden onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie. Er is een infuus van mannitol 5 % gegeven. Dosering van iothalamate: 200 mg/kg.

TABLE 7: Data from the clearance experiments with iothalamate (Conray®) done at dogs under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.). An infusion of mannitol 5 % is given. The dosage of iothalamate is 200 mg/kg.

Hond	Tijd p.i.	Creatinine			Urine-pH	Iothalamate		
		Urine mg/min	Plasma mg/ml	Clearance		Urine mg/min	Plasma mg/ml	Clearance
1010 21 kg	8,5'	2,74	0,122	22,3	7,3	31,1	1,40	22,1
	16,5'	2,74	0,112	24,4	7,3	21,7	0,99	24,3
	28'	3,09	0,111	27,7	7,2	19,2	0,67	28,4
	40'	1,41	0,106	13,3	7,3	9,7	0,55	17,5
1020 24 kg	7,5'	2,18	0,093	23,4	6,8	31,3	1,28	24,4
	13,5'	2,24	0,097	22,9	6,7	19,9	0,93	21,3
	25,5'	2,14	0,104	20,5	6,8	14,0	0,71	19,7
	35,5'	1,44	0,107	13,4	6,8	8,6	0,52	16,5
1030 17 kg	7,5'	1,80	0,901	20,0	7,0	23,1	0,93	24,7
	16'	1,80	0,807	22,4	6,9	15,2	0,67	22,7
	34'	0,78	0,837	9,39	6,9	6,3	0,47	13,4



FIGUUR 26: Verband tussen de uitscheiding en totale plasmaconcentratie van diatrizoate (Urografin®) in vergelijking met creatinine.

De curven zijn samengesteld uit de uitscheidingscurven en plasmacurven van de honden uit tabel 6, na omrekening voor een hond van 15 kg.

Opmerking: de uitscheidingscurve van diatrizoate is nagenoeg gelijk aan die van creatinine.

FIGURE 26: Relation between the excretion and total plasma concentration of diatrizoate (Urografin®) in comparison with creatinine.

The lines are composed of the curves of the excretion and total plasma concentration from the dogs in table 6, after normalizing for a 15 kg dog.

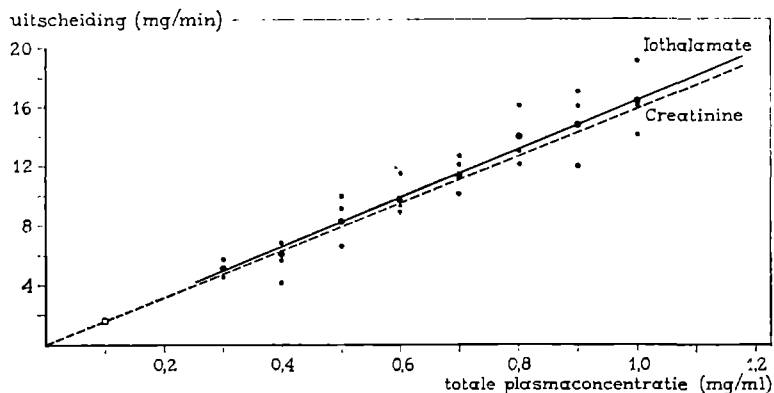
Note: the excretion curve of diatrizoate is nearly the same as that of creatinine.

VI. COMPETITIE

Het competitieverschijnsel is alleen bestudeerd met die contrastmiddelen welke duidelijk tubulair worden uitgescheiden, zoals iodopyracet en acetrizoate.

Voor het aantonen van een competitie is enerzijds gebruik gemaakt van de stop-flow en anderzijds is het effect van de competitie vastgelegd aan de hand van uitscheidingscurven. Eerst is nagegaan of iodopyracet en acetrizoate door een zelfde mechanisme worden uitgescheiden. Om dit met een stop-flow experiment te kunnen aantonen is begonnen met een stop-flow proef met acetrizoate alleen, waarbij de concentratie in de urine alternerend om de $7\frac{1}{2}$ seconden bij 237 en 280 mμ is gemeten.

Bij 280 mμ blijkt slechts een zeer geringe fractie van acetrizoate geregistreerd te



FIGUUR 27: Verband tussen de uitscheiding en totale plasmaconcentratie van iothalamate (Conray®) in vergelijking met creatinine.

De curven zijn samengesteld uit de uitscheidingscurven en plasmacurven van de honden uit tabel 7, na omrekening voor een hond van 15 kg.

Opmerking: de uitscheidingscurve van iothalamate is nagenoeg gelijk aan die van creatinine.

FIGURE 27: Relation between the excretion and total plasma concentration of iothalamate (Conray®) in comparison with creatinine.

The lines are composed of the curves of the excretion and total plasma concentration from the dogs in table 7, after normalizing for a 15 kg dog.

Note: the excretion curve of iothalamate is nearly the same as that of creatinine.

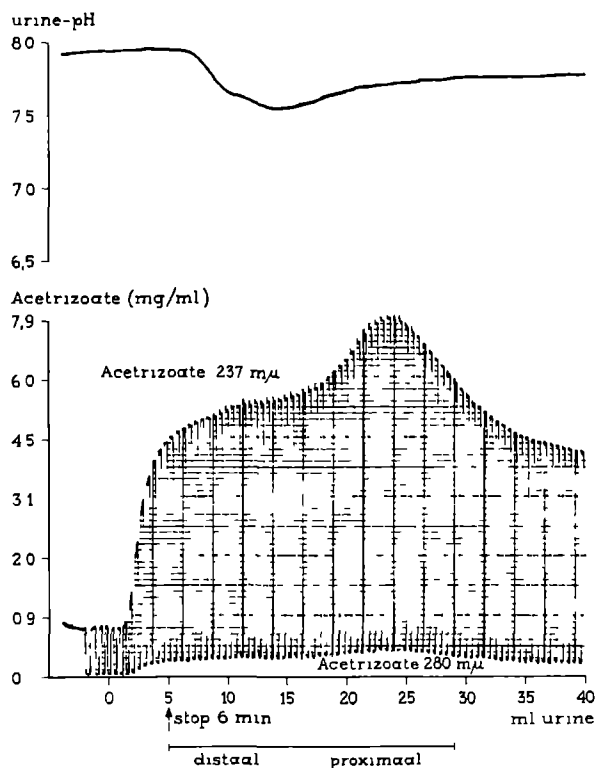
worden, zodat de concentratiebepaling van iodopyracet nauwelijks gestoord zal worden door de aanwezigheid van acetrizoate (figuur 28).

Door nu bij de twee genoemde golflengten te meten kan, na een gecombineerde injectie van iodopyracet en acetrizoate, van beide contrastmiddelen de concentratie worden bepaald. Een volgende stop-flow is uitgevoerd na intraveneuze injectie van 100 mg iodopyracet en 100 mg acetrizoate per kg lichaamsgewicht. Dit komt neer op een dosering van 0,16 mmol iodopyracet en 0,17 mmol acetrizoate per kg lichaamsgewicht. Het nu verkregen registrogram geeft op beide golflengten een concentratieverhoging te zien in het gebied van de proximale tubuli (figuur 29a). De extinctie van iodopyracet bij 280 mμ wordt nu omgezet in een extinctie bij 237 mμ.

Deze curve van iodopyracet bij 237 mμ wordt afgetrokken van de oorspronkelijke curve op het registrogram gemeten bij 237 mμ (figuur 29b). Uit de aldus ontstane curven blijkt dat er geen actief tubulair transport van acetrizoate meer plaatsvindt. Uit dit experiment blijkt dat iodopyracet en acetrizoate door een

zelfde transportmechanisme via de proximale tubuli aan de voorurine worden toegevoegd.

Uit het feit dat de uitscheiding van iodopyracet weinig of niet vermindert bij combinatie, terwijl die van acetrizoate zeer sterk vermindert, zou men kunnen concluderen dat iodopyracet dus een veel grotere affiniteit heeft voor het transportsysteem. Deze conclusie houdt echter niet zonder meer stand. Het blijkt namelijk dat bij de gebruikte concentraties het langs de tubulus stromende



FIGUUR 28: Stop-flow experiment met acetrizoate (Plexombrine®) bij een hond, 24 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus gegeven van mannitol 15%. Urineproductie: 6 ml/min/nier.

De transmissie is gemeten bij 237 mμ en 280 mμ.

Opmerking: acetrizoate kan bij 280 mμ nauwelijks gemeten worden.

FIGURE 28: Stop flow experiment with acetrizoate (Plexombrine®) at a dog, 24 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

An infusion of mannitol 15% is given. The urine production is 6 ml/min/kidney.

The transmission is measured at 237 mμ and 280 mμ.

Note: at 280 mμ acetrizoate can hardly be measured.

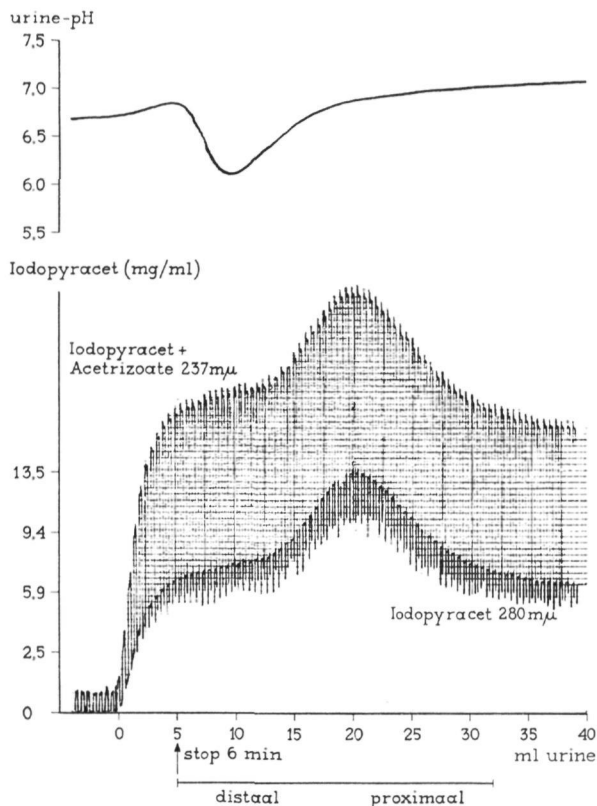


FIG. 29a

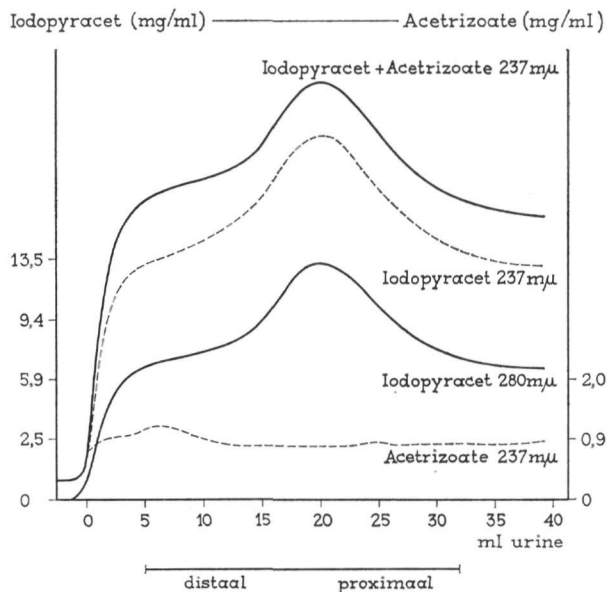


FIG. 29b

FIGUUR 29: Stop-flow experiment met iodopyracet (Pyelombrine M®) en acetrizoate (Plexombrine®) bij een hond, 15 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus gegeven van mannitol 15%. Urineproductie: 6 ml/min/nier.

Dosering: iodopyracet 100 mg/kg en acetrizoate 100 mg/kg.

Plasmaconcentratie waarbij de stop-flow heeft plaatsgevonden: iodopyracet $\pm 0,25$ mg/ml en acetrizoate 0,40 mg/ml.

a. De transmissie is gemeten bij 237 mμ en 280 mμ.

b. De curve van iodopyracet bij 280 mμ is omgezet in een curve bij 237 mμ en van de totale curve, gemeten bij 237 mμ, afgetrokken. Hierdoor wordt de curve van acetrizoate verkregen.

Opmerking: iodopyracet remt de tubulaire uitscheiding van acetrizoate.

FIGURE 29: Stop flow experiment with iodopyracet (Pyelombrine M®) and acetrizoate (Plexombrine®) at a dog, 15 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

An infusion of mannitol 15% is given. The urine production is 6 ml/min/kidney.

The dosage of iodopyracet is 100 mg/kg and of acetrizoate also 100 mg/kg.

The plasma concentration at which the stop flow has taken place is for iodopyracet about 0,25 mg/ml and of acetrizoate about 0,40 mg/ml.

a. The transmission is measured at 237 mμ and 280 mμ.

b. The curve of iodopyracet at 280 mμ is converted to a curve at 237 mμ and subtracted from the curve registered at 237 mμ. In this way the excretion curve of acetrizoate is calculated.

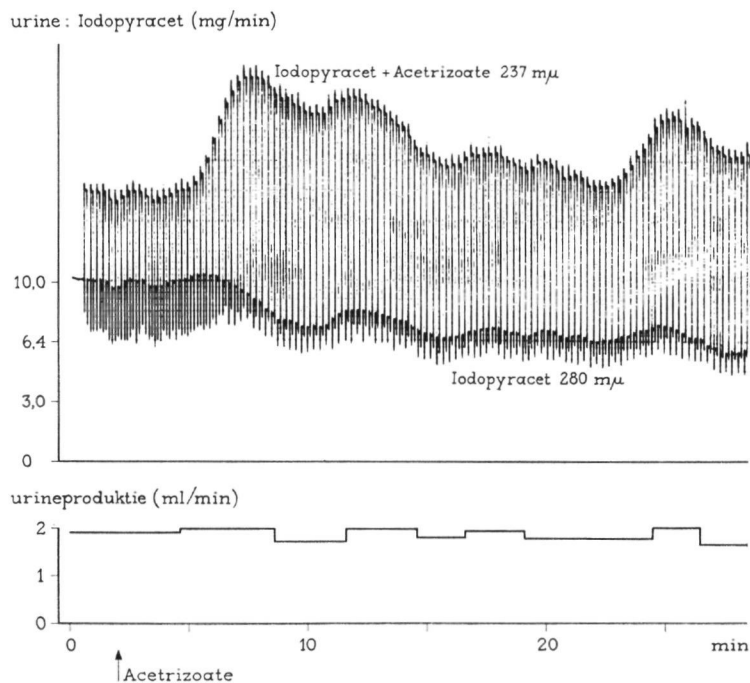
Note: iodopyracet blocks the tubular excretion of acetrizoate.

plasma volkomen ontdaan wordt van iodopyracet, hetgeen inhoudt dat het systeem een zekere reservecapaciteit heeft. Anderzijds blijkt dat bij de gebruikte concentratie van acetrizoate, dat overigens voor 50 % aan plasma-eiwitten gebonden is, de clearance aanzienlijk lager is. Daarbij is dus het systeem reeds aanzienlijk overbelast. Wanneer nu onder deze omstandigheden door combineren van de beide stoffen er wederzijds een zekere mate van remming in het transport optreedt, kan de consequentie zijn dat deze remming zich nog niet duidelijk manifesteert daar waar over een grote reservecapaciteit beschikt wordt, terwijl zij zich direct zou manifesteren daar waar het systeem reeds oververzadigd is. Dit betekent dat de bij dit experiment verkregen resultaten geen conclusie toelaten omtrent de affiniteit in engere zin van de gecombineerde stoffen voor het transportsysteem, wel echter voor de effectiviteit van het transportsysteem ten aanzien van de gecombineerde stoffen, welke voor het iodopyracet aanzienlijk groter is. Op grond van de plasmaconcentraties, waarbij het tubulaire maximum bereikt wordt voor de beide gecombineerde stoffen, komt men tot de conclusie dat het transportsysteem waar het betreft het acetrizoate reeds verzadigd is bij concentraties van ongeveer 0,075 mg/ml, zijnde de vrije concentratie van de betrokken stof, waarbij het tubulaire maximum bereikt wordt. Voor het iodopyracet geldt als vergelijkbare waarde een vrije concentratie van 0,45 mg/ml, welke vrijwel gelijk is aan de totale plasmaconcentratie waarbij het tubulaire maximum bereikt wordt. Zoals verwacht treedt bij een verhoging van de dosis acetrizoate in vergelijking tot iodopyracet bij de combinatie ook een remming van de uitscheiding van het iodopyracet op.

Nadat van iodopyracet een continue uitscheiding is verkregen wordt het proefdier 100 mg per kg acetrizoate intraveneus toegediend. Op het registrogram ziet men dat zodra acetrizoate door de nier wordt uitgescheiden, de concentratie van iodopyracet in de urine begint te dalen. Acetrizoate is derhalve in staat de tubulaire excretie van iodopyracet te remmen (figuur 30), hoewel in mindere mate dan PAH (figuur 31).

Bij het verschil in effect van acetrizoate en PAH op de tubulaire uitscheiding van iodopyracet kan men zich voorstellen dat de affiniteit van acetrizoate voor het transportsysteem geringer is dan die van PAH. De plasmaconcentratie waarbij voor acetrizoate en PAH het tubulaire maximum bereikt wordt, wijst hier, ook na correctie voor de eiwitbinding, niet op.

Uit het feit dat iodopyracet en acetrizoate elkaars tubulaire uitscheiding kunnen hinderen, kan geconcludeerd worden dat het gelijktijdig toedienen van deze twee contrastmiddelen bij de intraveneuze pyelografie niet zinvol is.



FIGUUR 30: Effect van acetrizoate (Plexombrine®) op de uitscheiding van iodopyracet (Pylombrine M®) bij een hond, 16 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus gegeven van mannitol 5%.

Dosering: iodopyracet 50 mg/kg + een infuus van dit contrastmiddel (10 mg/min).

Acetrizoate is gegeven in een dosering van 100 mg/kg.

De transmissie is gemeten bij 237 mμ en 280 mμ.

Opmerking: acetrizoate remt voor een deel de uitscheiding van iodopyracet.

FIGURE 30: The effect of acetrizoate (Plexombrine®) on the excretion of iodopyracet (Pylombrine M®) at a dog, 16 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

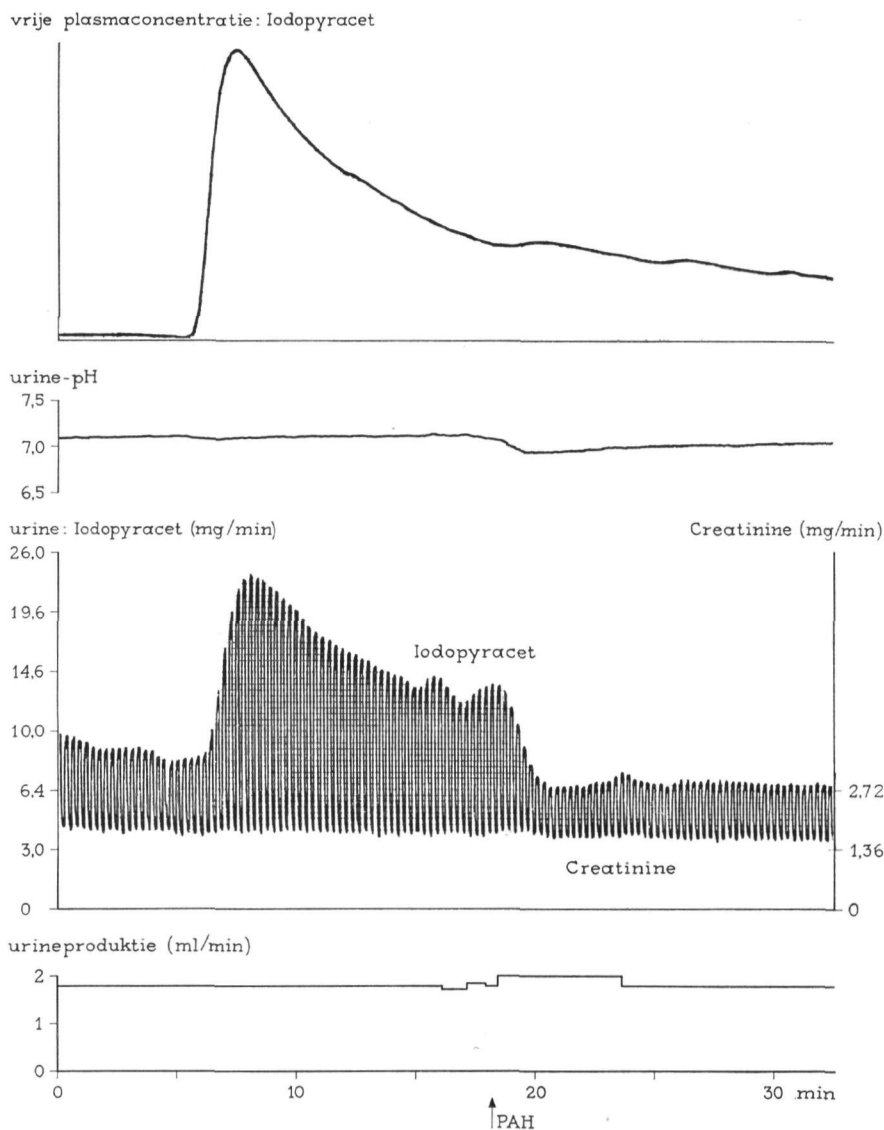
An infusion of mannitol 5% is given.

The dosage of iodopyracet is 50 mg/kg + an infusion of this contrastmedium (10 mg/min).

The dosage of acetrizoate is 100 mg/kg.

The transmission is measured at 237 mμ and 280 mμ.

Note: acetrizoate blocks partly the excretion of iodopyracet.



FIGUUR 31: Effect van PAH op de uitscheiding van iodopyracet (Pyelombrine M®) bij een hond, 17 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus van mannitol 5 % gegeven.

Dosering: iodopyracet 50 mg/kg + een infuus van dit contrastmiddel (10 mg/min).

PAH is gegeven in een dosering van 50 mg/kg.

Opmerking: PAH remt de uitscheiding van iodopyracet. De vrije plasmaconcentratie van iodopyracet toont een lichte stijging.

VII. TUBULAIRE UITSCHEIDING EN NATRIUMACETAAT

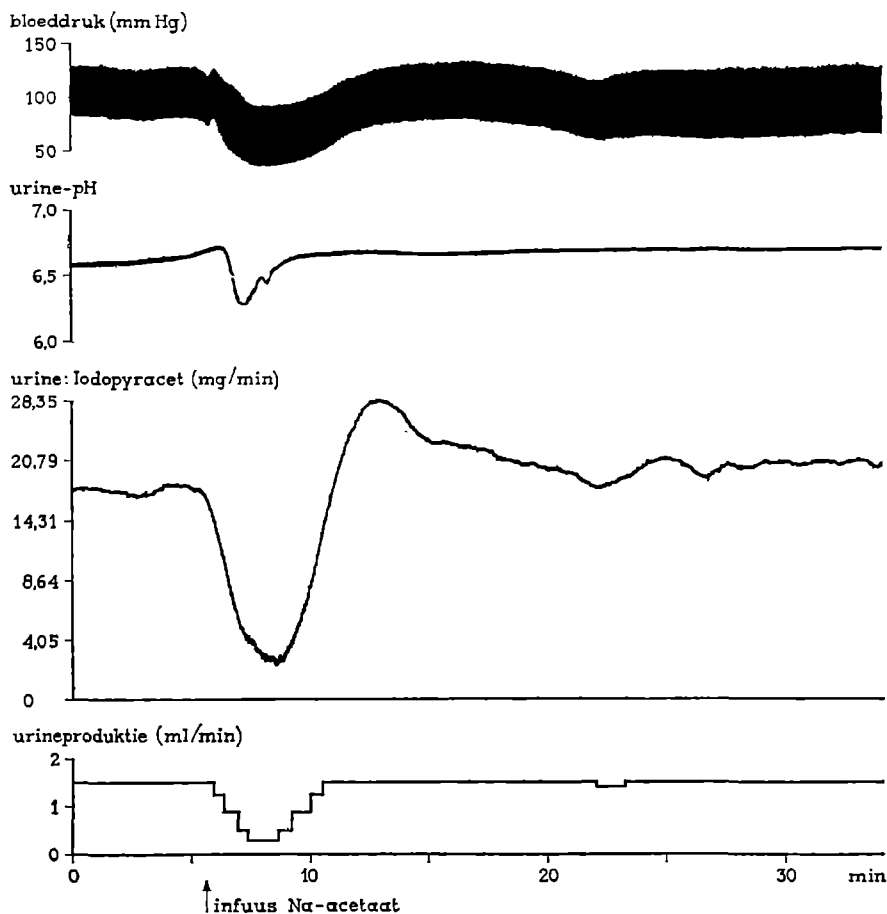
In hoofdstuk III is melding gemaakt van de waarnemingen van Mudge en Taggart (1950), dat natriumacetaat een duidelijke vermeerdering zou geven van de tubulaire uitscheiding van PAH. Wanneer de waarnemingen en conclusies juist zijn, zal de invloed van natriumacetaat ook gezien kunnen worden op de uitscheiding van iodopyracet. Dit zou voor de toepassing van dit röntgencontrastmiddel van betekenis kunnen zijn, omdat dit de mogelijkheid zou openen tot een nog snellere uitscheiding bij de intraveneuze pyelografie. Hetzelfde zou dan kunnen gelden voor acetrisoate.

Ter vaststelling van een mogelijk invloed van natriumacetaat op de uitscheiding van iodopyracet is het volgende experiment verricht.

Na een eerste dosis iodopyracet van 200 mg per kg is een infuus van dit contrastmiddel gegeven. Nadat de uitscheiding door de nier nagenoeg constant is geworden, is een bloedmonster afgenomen ter bepaling van de totale plasmaconcentratie van iodopyracet. Hierna is een infuus gegeven van iodopyracet en natriumacetaat. Er is een zelfde dosering van Na-acetaat gegeven als vermeld in het artikel van Mudge en Taggart (1950). Het effect van Na-acetaat is dat de uitscheidingscurve van iodopyracet een duidelijke stijging vertoont (figuur 32). De gevonden totale plasmaconcentratie van iodopyracet is ongeveer 0,5 mg per ml, hetgeen er op wijst dat vóór het geven van het infuus met Na-acetaat het tubulaire maximum al bereikt was. De toename in de uitscheiding is van dien aard dat dit niet kan zijn veroorzaakt door een verlaging van de eiwitbinding. Wanneer geen iodopyracet meer aan eiwit gebonden zou zijn, zou dit slechts een vermeerdering van de uitscheiding betekenen van ongeveer 0,5 mg per minuut. Er wordt echter ongeveer 3 mg per minuut meer uitgescheiden dan vóór het infuus van Na-acetaat. Toch blijkt dat dit effect van Na-acetaat voor de kliniek van geen betekenis kan zijn. Er wordt onmiddellijk volgend op het inlopen van het Na-acetaat een duidelijke reactie op de bloeddruk gezien, zich uitend in een forse daling. De urineproductie loopt sterk terug. De bloeddruk is pas na 7 minuten weer normaal.

- ◀ **FIGURE 31:** The effect of PAH on the excretion of iodopyracet (Pyelombrine M®) at a dog, 17 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.). An infusion of mannitol 5% is given. The dosage of iodopyracet is 50 mg/kg + an infusion of this contrastmedium (10 mg/min). The dosage of PAH is 50 mg/kg.

Note: PAH blocks the excretion of iodopyracet. The free plasma concentration of iodopyracet increases slightly.

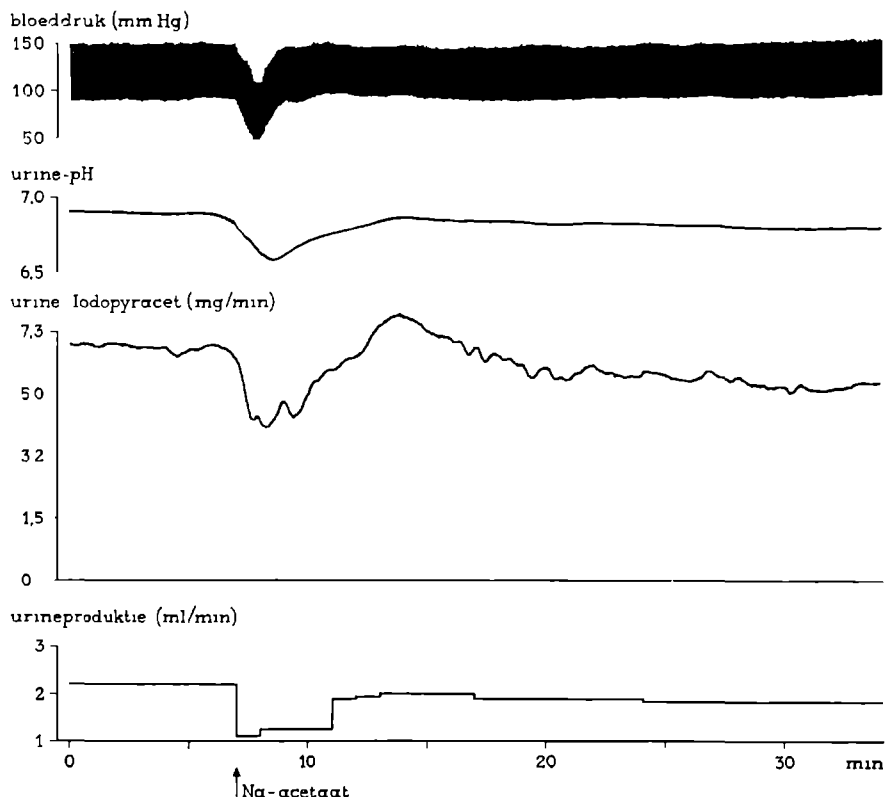


FIGUUR 32: Effect van Na-acetaat op de uitscheiding van iodopyracet (Pyelombrine M®) bij een hond, 15 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie. Er is een infuus gegeven van mannitol 5%.
Dosering: iodopyracet 100 mg/kg + een infuus van dit contrastmiddel (15 mg/min).
Na-acetaat is gegeven in een infuus (42 mg/min).

Opmerking: Na-acetaat verhoogt de uitscheiding van iodopyracet. Het veroorzaakt bovendien een bloeddrukval, een daling van de urineproductie en van de pH van de urine.

FIGURE 32: The effect of Na-acetate on the excretion of iodopyracet (Pyelombrine M®) at a dog, 15 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.). An infusion of mannitol 5% is given.
The dosage of iodopyracet is 100 mg/kg + an infusion of this contrastmedium (15 mg/min).
Na-acetate is given as an infusion (42 mg/min).

Note: Na-acetate increases the excretion of iodopyracet. Besides this it produces a decrease of the blood pressure of the urine production and of the pH of the urine.



FIGUUR 33: Effect van Na-acetaat op de uitscheiding van iodopyracet (Pyelombrine M®) bij een hond, 20 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie. Er is een infuus van mannitol 5 % gegeven.
 Dosering: iodopyracet 100 mg/kg + een infuus van dit contrastmiddel (15 mg/min).
 Dosering: Na-acetaat 250 mg i.v. totaal.

Opmerking: Na-acetaat heeft in deze dosering geen effect op de uitscheiding van iodopyracet. Het veroorzaakt een bloeddrukdaling en een daling van de urineproductie en van de pH van de urine.

FIGURE 33: The effect of Na-acetate on the excretion of iodopyracet (Pyelombrine M®) at a dog, 20 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.). An infusion of mannitol 5 % is given.
 The dosage of iodopyracet is 100 mg/kg + an infusion of this contrastmedium (15 mg/min).
 The single dosage of Na-acetate is 250 mg i.v.

Note: at this dosage Na-acetate has no effect on the excretion of iodopyracet. It decreases the blood pressure, the urine production and the pH of the urine.

De mogelijkheid bestaat nog dat met een lagere eenmalige dosis Na-acetaat de tubulaire uitscheiding van iodopyracet is te verhogen. Een experiment op deze wijze uitgevoerd toont dat dan geen verhoging van de uitscheiding van iodopyracet optreedt (figuur 33). Ook bij dit experiment wordt weer een daling van de bloeddruk waargenomen. Uit deze experimenten mag geconcludeerd worden dat een voldoende hoge dosis Na-acetaat de tubulaire excretie van iodopyracet verhoogt, doch dat gezien het sterke effect op de bloeddruk een klinische toepassing niet aan te bevelen is.

VIII. MENGSEL VAN CONTRASTMIDDELEN

Uit de clearancebepalingen is naar voren gekomen dat iodopyracet van alle röntgencontrastmiddelen het snelst wordt uitgescheiden. Daar dit contrastmiddel voor ongeveer 50% tubulair wordt uitgescheiden, niet teruggediffundeert en in geringe mate aan eiwit gebonden wordt, mag geconcludeerd worden dat de uitscheiding na een injectie van 100 mg per kg ongeveer gelijk moet zijn aan de uitscheiding van diatrizoate, waarvan 200 mg per kg is gegeven. Deze twee contrastmiddelen zullen elkaars uitscheiding niet beïnvloeden, omdat diatrizoate alleen door een glomerulaire filtratie door de nier wordt uitgescheiden. Diatrizoate is bovendien primair voor het mengsel uitgekozen vanwege zijn goede tolerantie (hoofdstuk II).

Bij een viertal honden is een mengsel gegeven bestaande uit diatrizoate en iodopyracet in een dosering van respectievelijk 100 en 50 mg per kg.

De uitscheiding is geregistreerd bij 237 en 280 m μ (figuur 34a). De berekening van de hoeveelheid uitgescheiden iodopyracet en diatrizoate is op dezelfde wijze uitgevoerd als bij de stop-flow experimenten met iodopyracet en acetrizoate. In figuur 34b zijn de gevonden waarden in curven uitgezet. De gemiddelde hoeveelheid iodopyracet en diatrizoate per minuut per kg lichaamsgewicht per nier uitgescheiden bij de vier honden is in tabel 8 opgenomen. Het gemiddelde is berekend naar de eerste 20 minuten op de uitscheidingscurven.

Omgerekend naar het jodiumpercentage van de contrastmiddelen blijkt ongeveer 0,83 mg jodium per minuut per kg te worden uitgescheiden, hetgeen ongeveer gelijk is aan de gemiddelde hoeveelheid gevonden bij injectie van 200 mg diatrizoate per kg, namelijk 0,80 mg jodium. Bij klinische toepassing van dit contrastmiddelmengsel mag, voor wat de röntgenfoto's betreft, een zelfde resultaat worden verwacht als met diatrizoate.

Uiteraard kan ook combinatie overwogen worden van twee of zelfs meer con-

TABEL 8: Uitscheiding berekend naar de eerste 20 minuten.

Opmerking: de opgegeven waarden zijn het gemiddelde van 4 honden-experimenten.

TABLE 8: Comparison of the amount of some contrastmedia excreted by the kidney, during the first 20 minutes, expressed as mg/min/kg/kidney.

Note: the values are the mean of 4 experiments at dogs.

Röntgencontrastmiddel	Dosering mg/kg	Uitscheiding mg/min/kg/nier	
		Contrastmiddel	J
Iodopyracet (Pyelombrine M®)	50	0,69	0,44
Diatrizoate (Urografin®)	100	0,63	0,39
Diatrizoate (Urografin®)	200	1,29	0,80

trastmiddelen die uitsluitend door ultrafiltratie uitgescheiden worden. Ook daar behoeft een onderlinge hindering niet gevreesd te worden. Middelen met een duidelijke binding aan plasma-eiwitten zijn in dit opzicht minder geschikt. Men mist bij dergelijke combinaties echter het voordeel van de extra snelle componenten in de uitscheiding welke berust op de actieve tubulaire excretie.

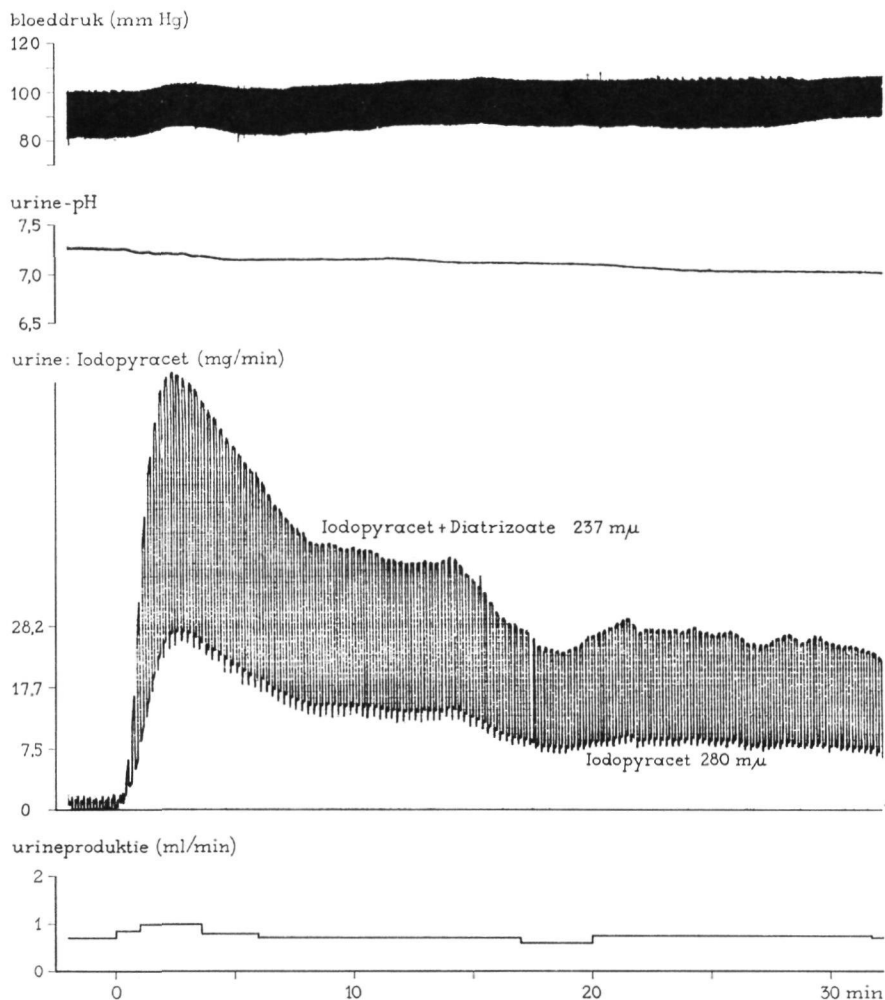


FIG. 34a

FIGUUR 34: Uitscheidingscurven na gelijktijdige injectie van iodopyracet (Pyelombrine M®) en diatrizoate (Urografin®) bij een hond, 18 kg, onder fluothane-lachgas narcose met atropine (s.c.) als premedicatie.

Er is een infuus van mannitol 5% gegeven.

Dosering: iodopyracet 50 mg/kg en diatrizoate 100 mg/kg.

a. De transmissie is gemeten bij 237 mμ en 280 mμ.

b. De curve van iodopyracet bij 280 mμ is omgezet in een curve bij 237 mμ en van de geregistreerde curve bij 237 mμ afgetrokken. Hierdoor is de diatrizoate uitscheidingscurve verkregen.

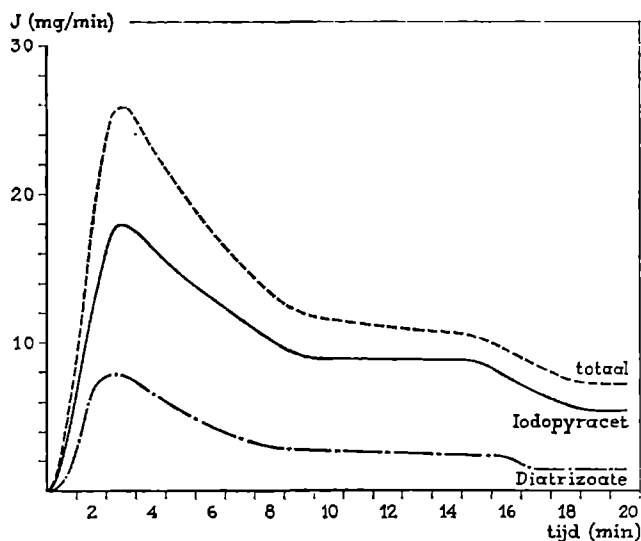


FIG. 34b

FIGURE 34: Excretion curves after simultaneous injection of iodopyracet (Pyelombrine M[®]) and diatrizoate (Urografin[®]) at a dog, 18 kg, under fluothane-nitrous oxide anaesthesia with a premedication of atropine (s.c.).

An infusion of mannitol 5% is given.

The dosage of iodopyracet is 50 mg/kg and of diatrizoate 100 mg/kg.

a. The transmission is measured at 237 mμ and 280 mμ.

b. The curve of iodopyracet at 280 mμ is converted to a curve at 237 mμ and subtracted from the curve registered at 237 mμ. In this way the excretion curve of diatrizoate is calculated.

SAMENVATTING

Bij honden is door middel van stop-flow experimenten en clearancebepalingen onderzocht op welke wijze iodopyracet, acetrizoate, diatrizoate, metrizoate, iothalamate en iodamide door de nier worden uitgescheiden.

Er is zowel voor de stop-flow als clearanceproeven een methodiek ontwikkeld, waarmee bijna alle benodigde gegevens continu worden geregistreerd. Alleen voor de totale plasmaconcentratie van de röntgencontrastmiddelen en de concentratie van creatinine in het plasma bleek geen continue registratie mogelijk. Voor deze twee gegevens zijn bloedmonsters afgenomen. Nadat een methode was ontwikkeld voor een continue meting van de vrije plasmaconcentratie van het contrastmiddel, namelijk met behulp van de dialyseplaat, behoefde alleen voor acetrizoate nog de totale plasmaconcentratie te worden bepaald, aangezien alleen dit contrastmiddel een belangrijke eiwitbinding vertoont.

De toegepaste techniek is niet alleen bruikbaar voor de röntgencontrastmiddelen, maar in principe ook voor elke organische substantie, waarvan men de uitscheiding door de nieren wil onderzoeken, mits zij echter wel spectrofotometrisch kunnen worden aangetoond en in voldoende hoge dosering worden gegeven.

Van de onderzochte contrastmiddelen wordt iodopyracet het meest efficiënt door de nieren uitgescheiden. De bijdrage van de tubulaire uitscheiding bedraagt ongeveer 50% van het totaal, waarbij dit percentage beneden een plasmaconcentratie van 1 mg/ml geleidelijk aan toeneemt. De T_m van dit contrastmiddel is bij de hond ongeveer 1 mg per minuut per kg per nier (16×10^{-4} mmol/min/kg/nier). Een terugdiffusie wordt van dit contrastmiddel niet gevonden.

Acetrizoate wordt eveneens tubulair uitgescheiden, maar duidelijk in mindere mate dan iodopyracet. Bij een plasmaconcentratie van 1 mg/ml draagt het tubulaire transport voor ongeveer 10% bij in de totale excretie. Aangezien de T_m van dit contrastmiddel (0,22 mg/min/kg/nier of 33×10^{-5} mmol/min/kg/nier) kleiner is dan de fractie, welke niet door de glomeruli gefiltreerd kan worden ten gevolge van de eiwitbinding (25% bij een totale plasmaconcentratie van 1 mg/ml), blijft de clearance van acetrizoate onder de creatinineclearance. Bij plasmaconcentraties beneden de 0,30 mg/ml blijkt het omgekeerde het geval te zijn. Merkwaardig is dat de tubulaire excretie boven een plasmaconcentratie van

0,30 mg/ml lager is dan beneden deze plasmaconcentratie van acetrizate. Het is niet uitgesloten dat dit effect veroorzaakt wordt door een terugdiffusie van acetrizate boven genoemde plasmaconcentratie. Overigens is geen invloed van de urine-pH op de uitscheiding van dit contrastmiddel gevonden. Diatrizate wordt alleen door een glomerulaire filtratie door de nieren uitgescheiden. De clearance van deze substantie is nagenoeg gelijk aan de clearance van creatinine. Een terugdiffusie van dit röntgencontrastmiddel blijkt niet plaats te vinden. Bij de stop-flow experimenten met metrizate is nauwelijks een tubulaire uitscheiding zichtbaar geworden. De clearanceproeven tonen over het algemeen een clearance van dit contrastmiddel, welke even boven de clearance van creatinine ligt. Ongeveer 7% verschijnt op een andere wijze dan door glomerulaire ultrafiltratie in de urine. Een tubulair maximum is voor metrizate niet aangetoond, zodat men zich kan afvragen of hier wel sprake is van een actief tubulair transport. Mogelijk vindt van dit contrastmiddel een lichte tubulaire diffusie plaats. Een invloed van de pH van de urine op de uitscheiding is niet gevonden.

Iothalamate geeft zowel bij de stop-flow experimenten als de clearanceproeven dezelfde resultaten als met diatrizate. Dit röntgencontrastmiddel wordt dus weer alleen door de glomeruli gefiltreerd. Er wordt geen tubulair transport gevonden, terwijl de uitscheiding niet beïnvloed wordt door een verandering van de pH van de urine.

Iodamide toont bij de stop-flow proeven een lichte verhoging van de concentratie in het gebied van de proximale tubuli, terwijl de clearance van dit contrastmiddel even boven de creatinineclearance ligt. Een T_m is voor iodamide weer niet aangetoond. De bijdrage van de tubulaire excretie op het totaal bedraagt ongeveer 9%. Ook hier zou men zich weer kunnen afvragen of wel gesproken mag worden van een actief tubulair transport. Een invloed van de pH van de urine op de excretie van iodamide is niet zichtbaar geworden.

De actieve tubulaire excretie van acetrizate is te remmen met iodopyracet. Ook het tegenovergestelde is aangetoond, maar het remmend effect van acetrizate op de tubulaire uitscheiding van iodopyracet blijkt geringer te zijn. Geconcludeerd mag worden dat beide contrastmiddelen door een zelfde tubulair transportsysteem worden uitgescheiden, maar dat de affiniteit van iodopyracet voor het transportmechanisme groter is dan van acetrizate.

Een verhoging van de tubulaire uitscheiding van iodopyracet met behulp van Na-acetaat is wel mogelijk gebleken, doch gezien het effect van Na-acetaat op de bloeddruk niet bruikbaar geacht voor de kliniek.

Op grond van het experimentele onderzoek is tot een gecombineerde dosering van contrastmiddelen overgegaan. Voor het mengsel is gekozen iodopyracet, dat in sterke mate tubulair wordt uitgescheiden, en diatrizoate dat alleen glomerulair wordt gefiltreerd. Dit laatste contrastmiddel heeft zijn keuze mede te danken aan de goede tolerantie. In enkele experimenten met dit contrastmiddel-mengsel bij honden is aangetoond dat met een dosis van 50 mg iodopyracet en 100 mg diatrizoate per kg lichaamsgewicht dezelfde hoeveelheid jodium in 20 minuten wordt uitgescheiden als met een dosis van 200 mg diatrizoate per kg. Deze dosering komt overeen met de gemiddeld in de kliniek intraveneus gegeven dosering.

The mechanisms involved in the renal excretion of iodopyracet, acetrizoate, diatrizoate, metrizoate, iothalamate and iodamide in the dog has been studied on the basis of stop-flow experiments and clearance determinations. For both the stop-flow and the clearance experiments methods have been developed by which a continuous registration of the parameters required is possible (figure 3 and 5). Only for the estimation of the total plasma concentration of radiopaque agents and the plasma concentration of creatinine no continuous registration was possible. These parameters are obtained from blood samples. With the development of a method for the continuous measurement and registration of the plasma concentration of the unbound radiopaque agents by means of a dialysis plate, only for the contrastmedia with an appreciable plasma protein binding the total plasma concentration had to be determined from a blood sample. The techniques developed are not restricted in their applicability to radiopaque agents but can be applied principally to all organic compounds, drugs which are excreted by the kidney, provided that they can be measured spectrophotometrically.

Of the radiopaque agents studied, iodopyracet is excreted most rapidly and completely by the kidneys (table 2 and figure 18 and 20). The active tubular excretion amounts to about 50% of the total excretion, a percentage which below plasma concentrations of 100 mg% gradually increases. The tubular maximum for the active excretion of this compound in the dog is about 1 mg per min per kg per kidney. A back-resorption on a basis of passive back-diffusion is not found for this radiopaque agent (figure 6 and 16).

Acetrizoate is also excreted actively by the tubular system but to a much lesser degree than iodopyracet (table 3 and figure 21 and 22). At the plasma concentration of 100 mg% the tubular excretion amounts to about 10% of the total excretion. Since the maximum for the tubular excretion, T_m , of this compound (0,22 mg/min/kg per kidney) is smaller than the fraction excluded from glomerular filtration because of protein binding (25% at the total plasma concentration of 100 mg%), the total clearance of acetrizoate is smaller than the creatinine clearance. At plasma concentrations below 30 mg% the reversed situa-

tion occurs. Remarkably the tubular excretion at plasma concentrations above 30 mg % is smaller than below this plasma concentration of acetrizoate. It is not excluded that this effect is due to a passive resorption of acetrizoate above the plasma concentration mentioned. No influence is found of a variation in the pH of the urine on the excretion of this radiopaque agent (figure 17).

Diatrizoate is only excreted by glomerular filtration in the kidneys (table 6 and figure 12). The clearance of this compound is practically equal to the creatinine clearance (figure 26). No passive resorption takes place (figure 15a).

In the stop-flow experiments with metrizoate hardly any tubular excretion can be detected (figure 13). The clearance experiments teach that as a rule the clearance of this compound is a bit higher than that of creatinine (table 5 and figure 24). This indicates that about 7 % of the compound reaches the urine by another way than glomerular ultrafiltration. A tubular maximum for the active excretion of metrizoate cannot be determined. The true basis of the difference in clearance between metrizoate and creatinine therefore is not clear. No influence of the pH of the urine was found (figure 15b).

Iothalamate shows in stop-flow experiments as well as in the clearance experiments results analogous to those obtained with diatrizoate (table 7 and figure 14 and 27). Also this compound therefore appears to be excreted only by glomerular filtration; no tubular excretion nor diffusion takes place while also pH changes in the urine have no influence on the clearance (figure 15c).

Iodamide in the stop-flow experiments shows a slight increase in concentration in the zone of the proximal tubules (figure 11). The clearance of this compound is slightly larger than that of creatinine (table 4 and figure 25). A maximum in the tubular excretion again could not be determined. The contribution of the tubular excretion amounts to about 9 % of the total excretion. No influence of variation of the pH of the urine takes place (figure 15d).

The active tubular excretion of acetrizoate can be inhibited by iodopyracet (figure 29). Also the reversed situation could be shown but the inhibitive effect of acetrizoate on the tubular excretion of iodopyracet is only small (figure 30). It may be concluded that both radiopaque agents are excreted by the same tubular transport system but that the affinity of iodopyracet for the transport system is larger than that of acetrizoate.

An enhancement of the tubular excretion of iodopyracet was possible by application of sodium acetate, however, taken into account the effects on the blood pressure of the latter compound this method is not applicable clinically (figure 32 and 33).

The experimental data have led to a dosage of combinations of radiopaque agents. A mixture of iodopyracet, with a high degree of active tubular excretion, and diatrizoate, excreted only by glomerular filtration, was chosen. The second compound is taken also because of its low toxicity. Experiments in dogs show that with a dosis of 50 mg iodopyracet and 100 mg diatrizoate per kg the same amount of iodine is excreted in a period of 20 min after application as with a dosis of 200 mg diatrizoate per kg (figure 34 and table 8).

LITERATUUR

- BARCLAY, J. A.: J. Physiol. 1949, 108, 33P.
- DEETJEN, P.: Ann. N.Y. Acad. Sci. 1966, 139, 408.
- KESSLER, R. H.: Clin. Pharmacol. Ther. 1962, 3, 109.
- MALVIN, R. L., W. S. WILDE en L. P. SULLIVAN: Am. J. Physiol. 1958, 194, 135.
- METAXAS, P., A. BILLIS en G. M. BULL: Clin. Sci. 1963, 24, 253.
- MUDGE, G. H. en J. V. TAGGART: Am. J. Physiol. 1950, 161, 191.
- O'CONNELL, J. B. M., J. C. ROMEO en G. H. MUDGE: Am. J. Physiol. 1962, 203, 985.
- RICHARDS, A. N., B. B. WESTFALL en P. A. BOTT: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 1934, 32, 73.
- SHANNON, J. A.: Am. J. Physiol. 1936, 114, 362.
- SLIJKE, D. D. VAN, B. HILLER en B. F. MILLER: Am. J. Physiol. 1935, 113, 611.
- SMITH, H. W.: The Kidney: Structure and Function in Health and Diseases 1951.
- SONNEVILLE, P. F.: Catecholaminen, Thesis Universiteit Nijmegen 1964.
- SWANSON, R. E. en A. A. HAKIM: Am. J. Physiol. 1962, 203, 980.
- TAGGART, J. V.: Science 1956, 124, 401.
- TAYLOR, M. G. en E. ULLMAN: J. Physiol. (Londen) 1961, 157, 38.
- WILDE, W. S. en R. L. MALVIN: Am. J. Physiol. 1958, 195, 153.

VERGELIJKEND ONDERZOEK VAN INTRAVENEUZE PYELOGRAMMEN

I. INLEIDING

Gebruik makend van de gegevens verkregen uit het experimentele onderzoek bij honden, zijn intraveneuze pyelogrammen gemaakt bij groepen van 100 patiënten met het doel vast te stellen of in doorsnee even goede röntgenfoto's worden verkregen met een lagere dosis iodopyracet of met een gecombineerde dosis van iodopyracet en diatrizoate als met de andere contrastmiddelen. Tevens is het aantal bijverschijnselen geregistreerd ter vergelijking van de tolerantie voor de verschillende niercontrastmiddelen en het mengsel.

IIA. METHODIEK VAN DE INTRAVENEUZE PYELOGRAFIE

Voor de intraveneuze pyelografie wordt een zodanige voorbereiding van de patiënt vereist, dat storende factoren voor een goede afbeelding van pyela en calices, zoals te sterk gevulde darmen of te veel gas in de darmen, zoveel mogelijk worden uitgeschakeld. Daarnaast wordt gestreefd naar een niet al te grote wateruitscheiding door de nieren. Getracht is dit te verwezenlijken door de patiënten de dag voor het onderzoek slakkenvrije maaltijden te laten gebruiken en omstreeks 4 uur 's middags een eetlepel wonderolie. De patiënten mogen vanaf de avond vóór het onderzoek niet meer drinken. Patiënten, bij wie het onderzoek pas 's middags wordt verricht, mogen 's morgens nog een slakkenvrij ontbijt gebruiken, doch mogen hierbij niet drinken. Over het algemeen is deze voorbereiding, vooral bij ambulante patiënten, ruim voldoende.

Voordat met het eigenlijke onderzoek wordt begonnen, wordt de patiënt verzocht te urineren. Aangezien het de bedoeling is de dosis van het contrastmiddel te betrekken op het lichaamsgewicht van de patiënt, wordt patiënt gewogen ter vaststelling van de hoeveelheid contrastmiddel, welke moet worden geïnjecteerd. Nadat een overzichtsfoto van de buik is gemaakt bij de patiënt in rugligging, wordt het contrastmiddel ingespoten. De injectie is doorgaans binnen de 30-60

seconden voltooid. De onderbuik van patiënt wordt, ter hoogte van het promontorium, gecomprimeerd met behulp van een sterk aangetrokken band, waaronder een rubber ballon wordt opgeblazen. Hierdoor wordt de afvloed van het contrastmiddel via de ureteren belemmerd en een betere pyelumvulling verkregen.

De röntgenfoto's worden gemaakt 5, 10 en 20 minuten na de injectie van het contrastmiddel. Tenslotte wordt nog een foto gemaakt nadat de compressie van de onderbuik is opgeheven, en wel ter beoordeling van ureteren en blaas en om een indruk te krijgen van de afvloed van het contrastmiddel vanuit het bekkenkelksysteem naar de blaas.

Het ontwikkelen van de röntgenfoto's heeft plaatsgevonden in een automatische ontwikkelmachine, waarmee het ontwikkelprocedé als constant mag worden beschouwd.

B. DOSERINGEN

In het algemeen moet ernaar gestreefd worden een zo laag mogelijke dosis van een röntgencontrastmiddel te geven. Een aantal radiologen is er toe overgegaan juist een hoge dosis van een contrastmiddel toe te dienen o.a. in de vorm van een druppelinfuus (Büchler 1966, Duré Smith 1966, Harris c.s. 1964, Neal c.s. 1965, Schencker 1964 en Schneider 1966). Een dosering van 50 ml contrastmiddel of meer, al dan niet verdund tot 200 ml met een fysiologische zout- of een glucose-oplossing, in 10 minuten gegeven, is hierbij gebruikelijk. Voordelen van deze methodiek zouden zijn dat ook bij een slechte nierfunctie of bij adipuze patiënten zeer goede afbeeldingen van de urine-afvoerwegen worden verkregen. Bovendien zouden pathologische veranderingen zo duidelijk zichtbaar worden, dat een retrograde pyelografie kan worden vermeden. De druppelinfuusmethode blijkt wel belastend voor de röntgenafdeling en bovendien nog al kostbaar te worden, zodat deze methode geen plaats heeft veroverd als routine-onderzoek voor de nieren (Cattell c.s. 1967). Velen gaan dan ook pas op deze methode over, wanneer het gewone intraveneuze pyelogram onvoldoende inlichtingen blijkt te verschaffen, zoals bij hydronefrose of in geval de nierfunctie slecht is.

Die afwijkingen welke een verder onderzoek behoeven kunnen bijvoorbeeld ook tumoren zijn, waarbij het dan gaat om een differentiatie tussen een benigne en een maligne proces. In deze gevallen kan door de renale arteriografie een betere bijdrage in de diagnostiek worden geleverd. De druppelinfuuspyelografie

lijkt ons alleen een extra onderzoek, dat geen beslissend uitsluitsel kan geven over bv. de aard van een ruimte innemend proces, maar alleen fraaiere afbeeldingen kan geven van de bekkenkelksystemen dan de intraveneuze pyelografie. Wij achten dit laatste niet voldoende om een patiënt een zo hoge dosis van een contrastmiddel te geven, ook al vermeldt de literatuur dat een dergelijke dosis goed wordt verdragen. Bruikbare gegevens over het voorkomen van bijverschijnselen bij de infuuspyelografie worden overigens nauwelijks vermeld. Dat het percentage bijverschijnselen tevens afhankelijk is van de toegediende dosis van het contrastmiddel, blijkt uit een onderzoek van Powell en medewerkers (1967). Het percentage misselijkheid en braken is bij intraveneuze injectie van 20, 40 en 80 ml diatrizoate (Urografin® 60%) respectievelijk 3%, 6% en 20%. Bij de druppelinfuuspyelografie (50 ml Urografin® 60%) is dit ongeveer 8%. De doseringen, toegediend bij de intraveneuze pyelogrammen in ons onderzoek, zijn gebaseerd op de gegevens verkregen bij de hondenexperimenten. Bij deze doseringen is er van uitgegaan dat bij injectie van 20 ml van bv. een 70% oplossing van een contrastmiddel de gemiddelde dosering ongeveer 200 mg per kg lichaamsgewicht zal zijn. Rekening houdend met de gevonden clearance van de verschillende contrastmiddelen en het jodiumgehalte van de oplossingen, is het volgende doseringsschema ontstaan:

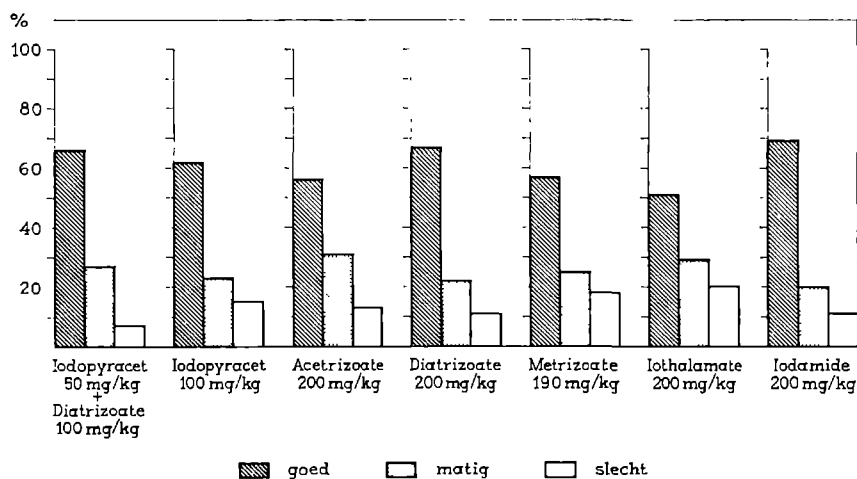
iodopyracet (Pyelombrine M® 60%): 100 mg/kg,
 acetrisoate (Plexombrine® 60%): 200 mg/kg,
 diatrizoate (Urografin® 60%): 200 mg/kg,
 metrisoate (Isopaque® 75%): 190 mg/kg,
 iothalamate (Conray® 60%): 200 mg/kg,
 iodamide (Urombrine® 65%): 200 mg/kg,
 mengsel: iodopyracet (Pyelombrine M® 60%): 50 mg/kg,
 diatrizoate (Urografin® 60%): 100 mg/kg.

III. KWALITEIT VAN DE RÖNTGENFOTO'S

Er is getracht de röntgenfoto's naar het contrast en de afbeelding van calices, pyela en ureteren te kwalificeren, waarbij een waardering is gehanteerd van: goed, matig en slecht.

Om een intraveneus pyelogram als 'goed' te kunnen kwalificeren zijn aan de röntgenfoto's de volgende eisen gesteld:

1. een goede afbeelding van calices en pyela op de opnamen gemaakt 5 of 10 minuten na de injectie van het contrastmiddel,



FIGUUR 1: Kwaliteit van de röntgenfoto's van 100 intraveneuze pyelogrammen per contrast-middel

FIGURE 1: Quality of the roentgen pictures of 100 pyelograms per contrastmedium. The pyelograms are qualified as good, moderate and bad

TABEL 1: Vergelijking van de kwaliteit van de röntgenfoto's van een intraveneus pyelogram verricht met iodopyracet of het contrastmiddelmengsel met die verricht met andere contrast-middelen bij dezelfde patiënt

TABLE 1: Comparison of the quality of the pyelograms obtained with iodopyracet or the mixture and that obtained with the other contrastmedia at the same patient

	Beter dan	Gelijk aan	Slechter dan	
Iodopyracet (Pyelombrine M®) 100 mg/kg	6	13	2	Andere contrastmiddelen 200 mg/kg
Iodopyracet (Pyelombrine M®) 50 mg/kg + Diatrizoate (Urografin®)	3	9	1	

2. een goede afbeelding van ureteren en blaas op de foto's gemaakt 20 minuten na injectie van het contrastmiddel of na opheffen van de compressie, en
3. een goed contrast tussen het bekkenkelksysteem en de omringende weefsels.

Wanneer aan één van bovenvermelde eisen niet wordt voldaan, is het onderzoek als 'matig' genoteerd. Heeft het onderzoek aan slechts één of geen van de gestelde eisen voldaan, dan is het intraveneuze pyelogram als 'slecht' gekwalificeerd. Het moeilijkst te beoordelen is de contrastrijkheid van pyela en calices, omdat hiervoor geen goed criterium bestaat. Daar komt nog bij dat factoren, welke niet van invloed zijn op de uitscheiding van het contrastmiddel als zodanig, wel van betekenis kunnen zijn voor de mate van contrast van de bekkenkelksystemen. Factoren, welke het contrast verminderen, kunnen zijn o.a. een onvoldoende compressie van de onderbuik, slechte voorbereiding van de patiënt en een onjuiste belichting van de foto. Er is met deze factoren uiteindelijk geen rekening gehouden, zodat het percentage matige en slechte onderzoeken gedeeltelijk door deze bijkomende factoren kan zijn veroorzaakt. Aangenomen mag worden dat de invloed van deze factoren op de kwaliteit van de röntgenfoto's voor alle groepen gelijk zal zijn.

In figuur 1 staan de kwalificaties van de series van 100 intraveneuze pyelogrammen met de verschillende contrastmiddelen naast elkaar weergegeven. Hieruit blijkt dat de resultaten van de verschillende series onderzoeken elkaar maar weinig ontlopen. Het aantal goede onderzoeken met iothalamate lijkt wat geringer dan met de overige contrastmiddelen. De intraveneuze pyelogrammen met het mengsel iodopyracet en diatrizoate en met iodopyracet alleen zijn gelijkwaardig te noemen aan de andere onderzoeken.

Om de resultaten met iodopyracet, in de lage dosering, en met het mengsel van contrastmiddelen iets beter te kunnen beoordelen, is achteraf nagegaan bij welke patiënten eerder of later, maar wel binnen een jaar, nog eens een intraveneuze pyelografie is gedaan maar nu met een van de andere contrastmiddelen.

De kwalificaties, die bij die onderzoeken waren gegeven, zijn toen vergeleken met de kwalificaties gegeven bij het onderzoek met iodopyracet of het mengsel iodopyracet-diatrizoate. De gegevens, samengevat in tabel 1, wijzen erop dat de röntgenfoto's verkregen met een dosis van 100 mg iodopyracet of met het contrastmiddelmengsel niet slechter en waarschijnlijk beter zijn dan die verkregen na injectie van 200 mg van de andere contrastmiddelen. Overigens zijn de aantallen te klein om aan de getallen al te veel waarde te kunnen toekennen.

TABEL 2: Percentages bijverschijnselen gevonden bij 100 intraveneuze pyelografieën per contrastmiddel

TABLE 2: The percentage of side-effects found at 100 intravenous pyelograms per contrastmedium

Bijverschijnselen	RÖNTGENCONTRASTMIDDELEN								
	Iodopyracet + Diatrizoate	Diatrizoate	Diatrizoate	Iodopyracet	Iothalamate	Metrizoate	Acetrizoate	Acetrizoate	Iodamide
	Pyelombrine M 60%, 50 mg/kg + Urografin 60% 100 mg/kg	Urografin 60% 200 mg/kg	Urografin 60% 200 mg/kg 37°	Pyelombrine 60% 100 mg/kg	Conray 60% 200 mg/kg	Isopaque 75% 190 mg/kg	Plexombrine 70% 200 mg/kg	Plexombrine 70% 200 mg/kg 37°	Urombrine 65% 200 mg/kg
Misselijkheid	14	4	7	12	4	10	15	14	18
Braken	1	4	4	4	4	8	7	13	2
Urticaria				1	1		1	1	
Jeuk	1						1		
Hoesten			1	1			1		
Duizeligheid		2		3	1	1		1	
Hoofdpijn			1	1					
Dyspnoe		1	1		2	1	3		1
Status asthmat.								1	
Shockerig	1				1				
Totaal %	17	11	14	22	13	20	28	30	21
Warmtegevoel	6	6	5	9	11	9	7	13	6
Vreemde smaak	1	1	2	2	2	4	1	2	3
Totaal %	24	18	21	33	26	33	36	45	30

IV. BIJVERSCIJNSELEN

Van alle patiënten bij wie een intraveneuze pyelografie is verricht, is het al dan niet optreden van bijverschijnselen geregistreerd. De bijverschijnselen zijn in tabel 2 voor ieder contrastmiddel vermeld. De moeilijkst te interpreteren reacties zijn de warmte- en smaaksensatie, welke soms niet spontaan worden aangegeven en vaak maar zeer kortdurend zijn. Wij zijn dan ook geneigd de warmte- en smaaksensatie niet als bijverschijnselen te moeten waarden. Volledigheidshalve is tabel 2 afgesloten met een opgave van het totale aantal van deze 'reacties' dat kon worden geregistreerd.

Wanneer de resultaten van dit gedeelte van het onderzoek nader worden bekeken, dan valt op dat, in overeenstemming met de gegevens uit de literatuur (hoofdstuk II tabel 6), het diatrizoate door de patiënten het best wordt verdragen. Hierna volgt iothalamate en het mengsel iodopyracet-diatrizoate. Het iodopyracet, gegeven in een dosis van 100 mg/kg, geeft een bijna even hoog percentage bijverschijnselen als acetrizoate, waarvan 200 mg/kg is toegediend. Het ziet er naar uit dat de dosering niet van overwegende betekenis behoeft te zijn voor het al dan niet optreden van bijverschijnselen. Opvallend is nog dat het percentage warmtesensatie bij de nieuwere contrastmiddelen, zoals metrizoate en iothalamate, hoog is.

Er wordt wel eens beweerd dat minder bijverschijnselen optreden wanneer het röntgencontrastmiddel vóór de injectie eerst op lichaamstemperatuur is gebracht. Volledigheidshalve is ook deze factor bij het onderzoek betrokken. Het blijkt dat bij acetrizoate en diatrizoate, waarvan de oplossingen eerst tot 37°C zijn verwarmd, het percentage bijverschijnselen hierdoor niet daalt (tabel 2).

Men kan zich nog afvragen of het optreden van bijverschijnselen nog beïnvloed wordt door het feit dat reeds eerder een dergelijk onderzoek heeft plaatsgehad. In totaal heeft 161 maal, op kortere of langere termijn, een tweede onderzoek plaatsgevonden. Het percentage bijverschijnselen bedroeg bij deze groep patiënten 20%, zodat een herhaling van het onderzoek de kans op bijverschijnselen niet blijkt te verhogen.

- ◀ TABEL 2. Wat betreft misselijkheid en braken, zijn diatrizoate en iothalamate significant ($P < 0,05$) minder toxisch dan de overige contrastmiddelen. Voor het totaal (zonder warmte en vreemde smaak) geldt dit nog steeds voor diatrizoate. Hoewel de cijfers voor acetrizoate het ongunstigste zijn, is alleen het verschil van deze stof vergeleken met het mengsel, diatrizoate en iothalamate significant ($P < 0,05$).

Het aantal patiënten met een overgevoelighedsanamnese bij wie een intraveneus pyelogram is verricht, is te gering geweest om tot enige conclusie te kunnen komen.

V. CONCLUSIE

Zoals uit het experimentele onderzoek bij honden is gebleken wordt iodopyracet het meest effectief door de nieren uitgescheiden, dankzij een lage eiwitbinding, een hoge tubulaire excretie en het ontbreken van een tubulaire terugdiffusie. Op grond hiervan leek het mogelijk dit contrastmiddel bij de intraveneuze pyelografie in een lagere dosering te geven dan de overige contrastmiddelen, ook al beschikken we nog niet over gegevens betreffende de procentuele plasma-eiwitbinding van de contrastmiddelen bij de mens.

Gezien de resultaten van de serie intraveneuze pyelografieën met iodopyracet, in een dosis van 100 mg/kg gegeven, verdient dit contrastmiddel de voorkeur boven de andere contrastmiddelen wanneer het gaat om de snelheid van uitscheiding. Juist in de lage dosering zou dan een voordeel kunnen worden gezien. Met het mengsel iodopyracet-diatrizoate worden in feite even goede resultaten bij de intraveneuze pyelografie bereikt als met iodopyracet. De waarde van het mengsel is hierin gelegen dat van het vrij toxische contrastmiddel iodopyracet de toegediende dosis weer lager is (50 mg/kg), hetgeen mogelijk is dankzij de hoge capaciteit van het actieve tubulaire transportproces, welke bij deze dosering volledig wordt benut. Bij deze dosering van iodopyracet is de hoeveelheid welke ervan per tijdseenheid wordt uitgescheiden gelijk aan de hoeveelheid uitgescheiden diatrizoate, gegeven in een dosering van 100 mg/kg. Dit laatste contrastmiddel wordt alleen via ultrafiltratie door de nieren uitgescheiden.

Een bezwaar tegen het gebruik van iodopyracet kan zijn dat de uitscheiding ervan gemakkelijk te beïnvloeden is door bv. een vooraf gegeven dosis penicilline of probenecid, terwijl deze mogelijkheid niet bestaat voor contrastmiddelen welke alleen maar glomerulair gefiltreerd worden.

Bij de keuze van het contrastmiddel mag men zich echter niet alleen laten leiden door de excretiesnelheid van de stof, maar dient zeker rekening te worden gehouden met de tolerantie voor het contrastmiddel. Uit het onderzoek blijkt dat men, hiermede rekening houdend, de keuze moet laten vallen op een contrastmiddel dat door het ontbreken van een tubulaire uitscheiding minder snel door de nier wordt uitgescheiden dan iodopyracet, maar dat, ondanks de dan te geven hogere dosis, toch minder bijverschijnselen teweegbrengt.

Het onderzoek leidt tot de conclusie dat gezocht dient te worden naar stoffen welke even goed worden uitgescheiden als iodopyracet, waarbij uiteraard het jodiumgehalte per molecuul niet lager mag zijn dan van dit contrastmiddel, maar die een betere tolerantie bezitten.

SAMENVATTING

Er is een serie intraveneuze pyelogrammen gemaakt met het mengsel iodopyracet-diatrizoate en met verschillende contrastmiddelen afzonderlijk. Bij de doseringen is rekening gehouden met de resultaten verkregen bij de hondenexperimenten en met het jodiumgehalte van de oplossingen. De hoeveelheid contrastmiddel, welke toegediend is, is berekend naar het lichaamsgewicht van de patiënten. Van de meeste contrastmiddelen is 200 mg/kg gegeven, van iodopyracet echter 100 mg/kg en van het mengsel 150 mg/kg, bestaande uit 50 mg/kg van iodopyracet en 100 mg/kg van diatrizoate.

Uit dit onderzoek is naar voren gekomen dat de kwaliteit van de röntgenfoto's bij alle series nagenoeg gelijk is.

Met betrekking tot de bijverschijnselen kan worden geconcludeerd dat diatrizoate de beste tolerantie toont, gevolgd door iothalamate en het mengsel iodopyracet-diatrizoate. Een hoog percentage bijverschijnselen wordt gezien bij gebruik van acetrizoate.

Wanneer alleen de excretiesnelheid bepalend was voor de keuze van een contrastmiddel voor de intraveneuze pyelografie, zou iodopyracet de voorkeur verdienen. Een mogelijk bezwaar kan dan wel zijn dat de tubulaire uitscheiding, welke een grote bijdrage levert in de totale uitscheiding, gehinderd kan worden door de aanwezigheid van andere organische zuren, welke eveneens via de tubulusscellen worden uitgescheiden.

De tolerantie moet echter medebepalend zijn voor de keuze van de te injecteren stof, zodat dan contrastmiddelen in aanmerking komen waarvan de uitscheidingsnelheid weliswaar veel lager is, maar die, ondanks de hogere dosering die dan nodig is, toch beter worden verdragen dan iodopyracet.

Uit het onderzoek mag geconcludeerd worden dat die stof als contrastmiddel ideaal is welke een excretiepatroon bezit als iodopyracet, een even hoog of hoger jodiumgehalte per molecuul heeft als dit contrastmiddel, maar een grotere tolerantie vertoont.

With a series of radiopaque agents and a mixture of the radiopaque agents iodopyracet and diatrizoate intravenous pyelograms have been made in man. As far as the combination is concerned the dosages were based on data obtained in experiments with dogs. The dosage of the various contrastmedia applied is calculated on the basis of the body weight of the patients. In most cases 200 mg/kg are given, of iodopyracet only 100 mg/kg and the combination was composed of 50 mg/kg iodopyracet and 100 mg/kg diatrizoate. The quality of the pyelograms obtained in this series of experiments was practically equal for all compounds and the combination (figure 1). As far as the side-effects are concerned, diatrizoate followed by iothalamate and the mixture iodopyracet-diatrizoate gave the best results. The highest percentage of side-effects was observed with acetrizoate (table 2). As far as the rate of excretion is determinant for the choice of the contrastmedium for intravenous pyelography, iodopyracet should be preferred. The tubular excretion which essentially contributes to the quick excretion may be disturbed, however, by the presence of other drugs, such as for instance probenecid and penicillin, which also are actively excreted by the same mechanism. As a matter of fact the frequency of the side-effects besides the quality of the pyelograms as such is determinant in the choice, such that radiopaque agents with a slower rate of excretion but better tolerated, and therefore eventually applied in higher doses, are used most commonly. From this investigation it may be concluded that as far as the excretion pattern is concerned iodopyracet has optimal qualities, however, the frequency of side-effects is too high.

LITERATUUR

BÜCHLER, E.: Radiologe 1966, 6, 194.

CATTELL, W. R., I. K. FRY, A. G. SPENCER en P. PURKISS: Brit. J. Radiol. 1967, 40, 561.

DURÉ SMITH, P.: Brit. J. Radiol. 1966, 39, 655.

HARRIS, J. H. en J. H. HARRIS JR.: Am. J. Roentgen. 1964, 92, 1391.

NEAL, M. P., T. R. HOWELL en R. G. LESTER: J.A.M.A. 1965, 193, 1017.

POWELL, T., B. C. LENSE, B. DEW, H. T. APSIMAN en R. G. PITMAN: Brit. J. Radiol. 1967, 40, 30.

SCHENCKER, B.: Radiology, 1964, 83, 12.

SCHNEIDER, R.: Dtsch. Med. Wschr. 1966, 91, 1842.

STELLINGEN

I

Bij vergelijken van de waarden voor het tubulair maximum, T_m , in de actieve uitscheiding van farmaca door de nier met als doel het verkrijgen van inzicht in de eraan ten grondslag liggende processen dienen de betrokken waarden uitgedrukt te worden in molaire eenheden en niet in milligrammen.

II

Waar het betreft de mogelijkheid tot teruggediffusie van farmaca vanuit het tubuluslumen naar het plasma is naast de dissociatieconstante in het bijzonder de verdelingscoëfficiënt van de betrokken stof van doorslaggevende betekenis.

III

Verdelingscoëfficiënten van organische zuren en basen, zoals o.a. opgegeven door Weiner en Mudge, lenen zich niet voor algemene toepassing aangezien de pH van de waterfase in de systemen waaraan de metingen verricht zijn, niet gegeven is.

(WEINER, I. M. en G. H. MUDGE: AM. J. MED. 1964, 36, 743).

IV

De gegevens zoals door Bolin afgeleid uit het nefrogram verkregen met dia-trizoate (Urografin®) laten de daarop door hem gebaseerde conclusies niet toe.

(BOLIN, H.: ACTA RADIOL. 1966, SUPPL. 257).

V

Bij combineren van geneesmiddelen voor klinisch gebruik treden vaak complicaties op als gevolg van de wisselwerking tussen de betrokken geneesmiddelen. Zie o.a. thesis van Dam (1968). Waar het betreft de als diagnostica gebruikte niercontrastmiddelen zijn de te verwachten moeilijkheden in deze gering.

VI

Bij een eenzijdige fractuur van het collum mandibulae dient de nabehandeling gericht te zijn op het voorkomen van hypermobiliteit in het contralaterale gewricht.

VII

Voor een goede röntgenologische informatie bij fracturen van het jukbeen en de jukboog is de symmetrische onderbelichte schedelbasisfoto onmisbaar.

VIII

In verband met orgaantransplantaties kan de radiogene immunosuppressie van grote betekenis worden. Het is van belang dat meer onderzoek op dit terrein verricht wordt. Behandeling door extracorporele bestraling met een bron met hoge β -emissie biedt in dit opzicht betere perspectieven dan een locale of algemene bestraling met b.v. Co^{60} .

(WOLF, J. S. en D. M. HUME: BULL. SOC. INT. CHIR. 1967, 26, 433).

IX

In aanmerking genomen de bestaande wetgeving op het gebied van de geneesmiddelen distributie, dient een speciale wettelijke regeling voor het gebruik van geneesmiddelen als doping in de sport als overbodig en ongewenst te worden beschouwd.

X

Waar het betreft het voorzien in de artsenbehoefte in Nederland verdient een ontlasting van de medici voor wat betreft hun zorg voor de geneesmiddelen voorziening van ruim 3 miljoen Nederlanders door uitbreiding van de opleiding van ter zake speciale deskundigen, apothekers, de voorkeur boven een geforceerde uitbreiding van de opleidingscapaciteit voor medici.

XI

Het onder de gegeven omstandigheden, nog van officiële kerkelijke zijde principiële afwijzen van het gebruik van anticonceptionele middelen, o.a. de voor dit doel gebruikte hormonale middelen is ongewenst, daar een dergelijke afwijzing in feite reeds door de tijd achterhaald zou zijn.

Nijmegen, 26 juni 1968

A. J. M. ENGELN

